



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LA SALMUERA SOBRE
LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS QUESOS FRESCOS
ARTESANALES EN UNA QUESERA DE QUIMIAG-CHIMBORAZO”**

TRABAJO DE TITULACIÓN

TIPO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Presentado para optar el grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORAS: ANDREA SOLEDAD AGUILERA VÁSCONEZ

KIMBERLY ZAMIRA LEÓN FIALLOS

DIRECTORA: ING. RAFAELA PACURUCU

Riobamba - Ecuador

2019

© 2019, Andrea Soledad Aguilera Vásconez y Kimberly Zamira León Fiallos

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: Tipo Proyecto de Investigación “**EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LA SALMUERA SOBRE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS QUESOS FRESCOS ARTESANALES EN UNA QUESERA DE QUIMIAG-CHIMBORAZO**”, de responsabilidad de las señoritas: Andrea Soledad Aguilera Vásquez y Kimberly Zamira León Fiallos, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Ing. Ana Rafaela Pacurucu Reyes
**DIRECTORA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Dr. Carlos Pilamunga Capus
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Nosotras, Andrea Soledad Aguilera Vásquez y Kimberly Zamira León Fiallos, somos responsables de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Trabajo de Titulación y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Andrea Soledad Aguilera Vásquez
060400824-3

Kimberly Zamira León Fiallos
160065411-3

DEDICATORIA

Éste trabajo de titulación se lo dedico a mi familia, a los que ahora me acompañan y a los que partieron, pero que siempre están a mi lado.

Para mis papás, hermanos, padrino y enamorado. Todo esto fue pensando en ustedes, mi refugio, mi hogar.

Sole.

Este trabajo realizado con todo mi esfuerzo está dedicado a Dios, la Virgen María y a mis ángeles por haberme dado la valentía, el valor y la fuerza para seguir adelante hasta culminar totalmente una etapa de mi vida. A mis padres Marcelo y Rita quienes son el pilar fundamental en mi vida quienes han puesto todo su amor, comprensión, y confianza a lo largo de la vida y mi carrera estudiantil y a la vez quienes me han inculcado valores y principios para ser una persona de bien. A mis hermanos Edwin y Juan por haber hecho todo el camino una verdadera aventura, regalándome momentos de verdadera felicidad y alegrías eternas. A mi enamorado J. M. quien me ha sabido dar ánimos en cada caída, por ser mi fuerza en los momentos de angustia y brindarme todo su cariño hasta llegar a la meta.

A mis maestros quienes me han brindado y compartido su conocimiento y sabios consejos que han obtenido al transcurso de su vida.

Zamy

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios y a lo más cercano a lo divino que tengo; mi familia, por ser mi cielo en la Tierra y algo digno de admirar. A la mujer que para mi suerte puedo llamar ¡mamá!, mi Patricia, que con mucho amor y ternura, me enseñó que el “no puedo” no existe y que rendirse no es una opción. Por su paciencia y capacidad de entendimiento cuando ni yo sabía lo que decía, por reírse conmigo, cuidarme y velar por mi bienestar. Por mantenerme cuerda y enseñarme a adoptar y cuidar perritos. Siempre te estaré agradecida, y me consideraré afortunada, si llego a ser la mitad de la mujer que eres. A mi papá, mi Guillermo, quien con su ejemplo me ayudó a afrontar con gracia todas las situaciones en las que yo erróneamente pensé que no había salida, por siempre brindarme sus consejos, su comprensión, por protegerme y ayudarme a discernir entre lo que está bien y mal. A mis hermanos Daniel y Renata, que con su ejemplo labraron mi camino sirviéndome de guías. Gracias Daniel por hacerme reír siempre, y mil gracias a ti Renata, por cuidar de los míos con dedicación. A mis abuelos que ya partieron, especialmente a mi Sara, que aunque no cumplió con su parte del trato y se fue cuando no debió, sé que le hubiera encantado verme donde estoy ahora y me hubiera dado su bendición (tenerle como mi abuela fue suficiente bendición para mí). A mi padrino Jorge, por ser como mi segundo papá, por velar por mi seguridad y pensar en mi futuro y bienestar; por sus consejos y cariño en cada etapa de mi vida. Y a mi enamorado, mi Gato, por ser mis piernas y fuerza, por jamás subestimar mis capacidades; por cuidarme y ayudarme todos los días, gracias por tu amor incondicional hacia mí y a los que me rodean, por centrarme y no dejar nunca que me dé por vencida.

Viviría mil vidas más a su lado.

Ustedes son mi inspiración.

Ustedes son mi nirvana.

Sole.

Deseo expresar mi gratitud a Dios, por darme la valentía y la fuerza necesaria para llegar a obtener uno de mis sueños más deseados y derramar sobre mí ser todas sus bendiciones. A mi familia, Rita, Marcelo, Edwin y Juan por ser mi fuente de apoyo y reactivadores de energía en todo momento, por ser quienes con sus sabias palabras o con unos simples pero calurosos abrazos me animaron a seguir hacia delante sin darme por vencida. Así mismos, agradezco a mi tutora de tesis y docentes quienes me compartieron sus conocimientos, experiencia para desarrollarme como persona y profesional en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Kimberly Zamira León Fiallos

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

| | |
|----------------|--|
| °B | Grados Beaume |
| °C | Grados Celsius |
| °D | Grados Dornic |
| µm | Micra |
| ANMAT | Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica |
| AOAC | Asociación de Comunidades Analíticas |
| APHA | American Public Health Association |
| BAL | Bacterias Ácido Lácticas |
| BPM | Buenas Prácticas de Manufactura |
| COVENIN | Comisión Venezolana de Normas Industriales |
| CRESA | Centro de Investigación en Sanidad Animal |
| DIGESA | Dirección General de Salud Ambiental |
| ETA | Enfermedad Transmitida por los Alimentos / Enfermedad de Transmisión Alimentaria |
| FAO | Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura |
| g | Gramos |
| HACCP | Hazard Analysis Critical Control Point |
| IMA | Index of Microbial Air Contamination |
| INEC | Instituto Nacional de Estadísticas y Censos |
| INEN | Instituto Ecuatoriano de Normalización |
| L | Litro |
| MAGAP | Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca |
| MF | Microfiltración |

| | |
|--------------|----------------------------------|
| mg | Miligramos |
| MINSA | Ministerio de Salud del Perú |
| mL | Mililitros |
| MNPC | Muy Numerosos Para Contar |
| MSP | Ministerio de Salud Pública |
| NTE | Norma Técnica Ecuatoriana |
| OMS | Organización Mundial de la Salud |
| PCA | Plate Count Agar |
| PCH | Prácticas Correctas de Higiene |
| ppm | Partes Por Millón |
| PTM | Métodos de Prueba de Rendimiento |
| PTU | Presión Transmembranar Uniforme |
| RLU | Unidades Relativas de Luz |
| RTE | Ready to Eat |
| TDS | Sólidos Totales Disueltos |
| UFC | Unidades Formadoras de Colonias |

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|-----------------------------|-------|
| ÍNDICE DE ABREVIATURAS..... | vii |
| INDICE DE TABLAS..... | xv |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | xix |
| ÍNDICE DE GRÁFICOS..... | xx |
| ÍNDICE DE ANEXOS | xxii |
| RESUMEN..... | xxiii |
| SUMMARY | xxiv |
| INTRODUCCIÓN | 1 |

CAPÍTULO I

| | |
|--|---|
| 1. MARCO TEÓRICO | 5 |
| 1.1 Bases Teóricas | 5 |
| 1.1.1 <i>Leche</i> | 5 |
| 1.1.2 <i>Queso</i> | 6 |
| 1.1.2.1 <i>Clasificación de los quesos</i> | 7 |
| 1.1.3 <i>Queso fresco</i> | 8 |
| 1.1.4 <i>Elaboración de queso fresco</i> | 8 |
| 1.1.4.1 <i>Leche íntegra</i> | 8 |

| | | |
|----------------|---|-----------|
| 1.1.4.2 | <i>Pasteurización</i> | 9 |
| 1.1.4.3 | <i>Atemperado</i> | 9 |
| 1.1.4.4 | <i>Mezclado</i> | 9 |
| 1.1.4.5 | <i>Coagulación</i> | 9 |
| 1.1.4.6 | <i>Corte, agitación y desuerado</i> | 10 |
| 1.1.4.7 | <i>Salado</i> | 10 |
| 1.1.4.8 | <i>Prensado</i> | 11 |
| 1.1.4.9 | <i>Empacado</i> | 11 |
| 1.1.5 | <i>Requisitos generales de los quesos frescos</i> | 12 |
| 1.1.5.1 | <i>Parámetros microbiológicos de los quesos frescos</i> | 12 |
| 1.1.6 | <i>Microorganismos indicadores de la calidad higiénica</i> | 12 |
| 1.1.6.1 | <i>Staphylococcus aureus</i> | 13 |
| 1.1.6.2 | <i>Aerobios mesófilos</i> | 13 |
| 1.1.6.3 | <i>Enterobacterias</i> | 13 |
| 1.1.6.4 | <i>Salmonella</i> | 14 |
| 1.1.6.5 | <i>Mohos y levaduras</i> | 14 |
| 1.1.6.7 | <i>Escherichia coli</i> | 15 |
| 1.1.7 | <i>Medición de ATP</i> | 15 |
| 1.1.8 | <i>Salmuera</i> | 16 |
| 1.1.8.1 | <i>Preparación de salmuera</i> | 16 |
| 1.1.9 | <i>Mecanismo de salación</i> | 17 |

| | |
|---|-----------|
| 1.1.10 Factores a tomar en cuenta de la salmuera | 17 |
| 1.1.10.1 Evaluación organoléptica..... | 18 |
| 1.1.10.2 Medición de pH y acidez..... | 18 |
| 1.1.10.3 Análisis microbiológico | 18 |
| 1.1.10.4 Control de temperatura y concentración de sal..... | 18 |
| 1.1.10.5 Revisión del movimiento | 19 |
| 1.1.11 Importancia de la salmuera en el proceso de salado de quesos..... | 19 |
| 1.1.12 Formas de aumentar el tiempo de vida útil de la salmuera..... | 20 |
| 1.1.13 Medición Espectrofotométrica..... | 21 |
| 1.1.14 Medición de Conductividad Eléctrica..... | 21 |

CAPÍTULO II

| | |
|--|-----------|
| 2. MARCO METODOLÓGICO | 23 |
| 2.1 Lugar de la investigación | 23 |
| 2.2 Factores de Investigación..... | 23 |
| 2.2.1 Población de estudio | 24 |
| 2.2.2 Muestra..... | 24 |
| 2.2.3 Materiales, equipos y reactivos | 24 |
| 2.2.3.1 Materiales..... | 24 |
| 2.2.3.2 Equipos..... | 25 |

| | | |
|---------|---|----|
| 2.2.3.3 | <i>Reactivos</i> | 25 |
| 2.2.3.4 | <i>Medios de cultivo y Placas Petrifilm</i> | 25 |
| 2.3 | Técnicas y Métodos | 26 |
| 2.3.1 | <i>Levantamiento de la línea base</i> | 26 |
| 2.3.2 | <i>Toma y transporte de muestras</i> | 26 |
| 2.4 | Muestreo | 36 |
| 2.4.1 | <i>Muestreo de superficies inertes</i> | 36 |
| 2.4.2 | <i>Muestreo de superficies vivas</i> | 36 |
| 2.4.3 | <i>Muestreo de ambiente</i> | 36 |
| 2.4.4 | <i>Muestreo de materia prima</i> | 37 |
| 2.4.4.1 | <i>Sal nueva</i> | 37 |
| 2.4.4.2 | <i>Sal usada</i> | 37 |
| 2.4.4.3 | <i>Agua</i> | 37 |
| 2.4.4.4 | <i>Salmuera</i> | 37 |
| 2.4.4.5 | <i>Queso</i> | 37 |
| 2.5 | Preparación de diluyentes y medios | 38 |
| 2.5.1 | <i>Agua de Peptona Bufferada</i> | 38 |
| 2.5.2 | <i>Agar PCA (Plate Count Agar)</i> | 38 |
| 2.5.3 | <i>Agar Saboraud</i> | 38 |
| 2.6 | Placas Petrifilm™ 3M | 39 |
| 2.6.1 | <i>Placas Petrifilm™ para detección cualitativa de Salmonella</i> | 39 |

| | | |
|---------|---|----|
| 2.6.1.1 | <i>Preparación de base de enriquecimiento</i> | 39 |
| 2.6.1.2 | <i>Preparación de polvo de enriquecimiento</i> | 39 |
| 2.7 | Análisis Microbiológico | 40 |
| 2.7.1 | <i>Preparación de diluciones seriadas</i> | 41 |
| 2.7.1.1 | <i>Diluciones de sal</i> | 41 |
| 2.7.1.2 | <i>Diluciones de agua, salmuera y enjuague de manipuladores (superficies vivas)</i> | 42 |
| 2.7.1.3 | <i>Diluciones de quesos antes y después del proceso de salado</i> | 42 |
| 2.7.2 | <i>Siembra</i> | 43 |
| 2.7.2.1 | <i>Técnica de siembra</i> | 43 |
| 2.7.2.2 | <i>Superficies vivas</i> | 43 |
| 2.8 | Análisis Espectrofotométrico | 44 |
| 2.9 | Análisis de la Conductividad Eléctrica | 44 |
| 2.10 | Cálculo de TDS (Sólidos Totales Disueltos) | 45 |
| 2.11 | Cálculo del rango de salinidad | 45 |

CAPÍTULO III

| | | |
|-------|--|----|
| 3. | MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN | 46 |
| 3.1 | Medición de ATP | 46 |
| 3.1.1 | <i>Superficies inertes</i> | 46 |
| 3.1.2 | <i>Superficies vivas</i> | 51 |

| | | |
|----------------|---|-----------|
| 3.2 | Análisis Microbiológico..... | 53 |
| 3.2.1 | <i>Superficies vivas (manos de manipuladores).....</i> | 53 |
| 3.2.1.1 | <i>Staphylococcus aureus.....</i> | 53 |
| 3.2.1.2 | <i>Aerobios mesófilos.....</i> | 55 |
| 3.2.1.3 | <i>Enterobacterias, E. coli y coliformes.....</i> | 56 |
| 3.2.1.4 | <i>Mohos y levaduras.....</i> | 59 |
| 3.2.2 | <i>Ambiente.....</i> | 60 |
| 3.2.3 | <i>Análisis microbiológico de materia prima.....</i> | 62 |
| 3.2.3.1 | <i>Staphylococcus aureus.....</i> | 62 |
| 3.2.3.2 | <i>Aerobios mesófilos.....</i> | 67 |
| 3.2.3.3 | <i>Enterobacterias, E. coli y coliformes.....</i> | 72 |
| 3.2.3.4 | <i>Mohos y levaduras.....</i> | 82 |
| 3.2.3.5 | <i>Salmonella.....</i> | 88 |
| 3.2.3.6 | <i>Análisis complementarios de salmuera.....</i> | 89 |
| 3.2.3.7 | <i>Tratamientos a la sal usada.....</i> | 91 |
| | CONCLUSIONES..... | 93 |
| | RECOMENDACIONES..... | 94 |
| | BIBLIOGRAFÍA | |
| | ANEXOS | |

INDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1-1: Principales derivados lácteos..... | 5 |
| Tabla 2-1: Tipos de Queso..... | 7 |
| Tabla 3-1: Formas de agregar sal a los quesos..... | 11 |
| Tabla 4-1: Requisitos Microbiológicos de los quesos frescos. | 12 |
| Tabla 5-1: Resultados de medición con Luminómetro. | 16 |
| Tabla 6-1: Métodos empleados para el tratamiento de salmueras. | 20 |
| | |
| Tabla 1-2: Muestreos en la quesera artesanal. | 26 |
| Tabla 2-2: Muestreos en la quesera artesanal. | 27 |
| Tabla 3-2: Medición de ATP de superficies inertes..... | 28 |
| Tabla 4-2: Análisis microbiológico de superficies vivas..... | 29 |
| Tabla 5-2: Análisis microbiológico de ambiente..... | 30 |
| Tabla 6-2: Análisis microbiológico de sal nueva..... | 30 |
| Tabla 7-2: Análisis microbiológico de sal usada | 30 |
| Tabla 8-2: Análisis microbiológico de agua para preparación de salmuera. | 31 |
| Tabla 9-2: Análisis microbiológico de salmuera en la tina superior..... | 32 |
| Tabla 10-2: Análisis microbiológico de salmuera en la tina inferior..... | 32 |
| Tabla 11-2: Análisis microbiológico de quesos antes del proceso de salado en tina superior de salmuera. | 33 |
| Tabla 12-2: Análisis microbiológico de quesos antes del proceso de salado en tina inferior de salmuera. | 33 |
| Tabla 13-2: Análisis microbiológico de quesos después del proceso de salado en tina superior | |

| | |
|--|----|
| de salmuera. | 34 |
| Tabla 14-2: Análisis microbiológico de quesos después del proceso de salado en tina inferior de salmuera. | 35 |
| Tabla 15-2: Validaciones AOAC para Placas Petrifilm™. | 40 |
| Tabla 16-2: Temperatura y tiempo de incubación de los microorganismos analizados. | 44 |
| Tabla 1-3: Resultado de la medición de ATP en superficies inertes, expresado en RLU (Unidades Relativas de Luz). | 46 |
| Tabla 2-3: Valores promedios de los resultados de ATP de las tinas de salmuera superior e inferior expresado en RLU. | 47 |
| Tabla 3-3: Valores promedios de los resultados de ATP de las lonas de sal previo el vertido de su contenido en las tinas expresado en RLU. | 49 |
| Tabla 4-3: Valores promedio de los resultados de ATP expresado en RLU en el mesón utilizado para escurrimiento de quesos. | 50 |
| Tabla 5-3: Resultado de la medición de ATP en superficies vivas. | 51 |
| Tabla 6-3: Valores promedio de resultados de ATP en superficies vivas expresadas en RLU. | 52 |
| Tabla 7-3: Resultados de Staphylococcus aureus en muestras de manipuladores. | 53 |
| Tabla 8-3: Resultados de Aerobios mesófilos en muestras de manipuladores | 55 |
| Tabla 9-3: Resultados de Enterobacterias en muestras de manipuladores. | 56 |
| Tabla 10-3: Resultados de E. coli / Coliformes en muestras de manipuladores. | 57 |
| Tabla 11-3: Valores promedio de resultados de coliformes y E. coli en muestras de manipuladores. | 57 |
| Tabla 12-3: Resultados de mohos y levaduras en muestras de manipuladores. | 59 |
| Tabla 13-3: Valores promedio de resultados de mohos y levaduras en muestras de manipuladores. | 59 |

| | |
|--|----|
| Tabla 14-3: Resultado microbiológico de ambiente. | 61 |
| Tabla 15-3: Resultados de Staphylococcus aureus en muestras de sal y agua. | 62 |
| Tabla 16-3: Resultados de Staphylococcus aureus en muestras de salmuera. | 63 |
| Tabla 17-3: Valores promedio de resultados de Staphylococcus aureus en muestras de salmuera. | 63 |
| Tabla 18-3: Resultados de Staphylococcus aureus en muestras de quesos. | 65 |
| Tabla 19-3: Valores promedio de los resultados de Staphylococcus aureus de los quesos antes y después del proceso de salado. | 65 |
| Tabla 20-3: Resultados de Aerobios mesófilos en muestras de sal y agua. | 67 |
| Tabla 21-3: Resultados de Aerobios mesófilos en muestras de salmuera. | 68 |
| Tabla 22-3: Valores promedio de resultados de Aerobios mesófilos en muestras de salmuera. | 68 |
| Tabla 23-3: Resultados de Aerobios mesófilos en muestras de queso. | 70 |
| Tabla 24-3: Valores promedio de los resultados de aerobios mesófilos de los quesos antes y después del proceso de salado. | 70 |
| Tabla 25-3: Resultados de Enterobacterias, E. coli y coliformes en muestras de sal y agua. . | 72 |
| Tabla 26-3: Resultados de Enterobacterias en muestras de salmuera. | 73 |
| Tabla 27-3: Valores promedio de resultados de Enterobacterias en muestras de salmuera. | 73 |
| Tabla 28-3: Resultados de E. coli en muestras de salmuera. | 74 |
| Tabla 29-3: Resultados de Coliformes en muestras de salmuera. | 74 |
| Tabla 30-3: Valores promedios de los resultados de E. coli y coliformes en muestras de salmuera. | 75 |
| Tabla 31-3: Resultados de Enterobacterias en muestras de queso. | 77 |
| Tabla 32-3: Valores promedio de los resultados de enterobacterias en quesos antes y después del proceso de salado. | 77 |

| | |
|---|----|
| Tabla 33-3: Resultados de E. coli en muestras de queso. | 78 |
| Tabla 34-3: Valores promedio de los resultados de E. coli en quesos antes y después del proceso de salado. | 78 |
| Tabla 35-3: Resultados de Coliformes en muestras de queso. | 80 |
| Tabla 36-3: Valores promedio de los resultados de coliformes en quesos antes y después del proceso de salado. | 80 |
| Tabla 37-3: Resultados de Mohos y levaduras en muestras de sal y agua. | 82 |
| Tabla 38-3: Resultados de mohos en muestras de salmuera. | 82 |
| Tabla 39-3: Resultados de levaduras en muestras de salmuera. | 83 |
| Tabla 40-3: Valores promedios de resultados de mohos y levaduras en muestras de salmuera. | 83 |
| Tabla 41-3: Resultados de mohos en muestras de queso. | 85 |
| Tabla 42-3: Valores promedio de los resultados de mohos en muestras de queso antes y después del proceso de salado. | 85 |
| Tabla 43-3: Resultados de levaduras en muestras de queso. | 86 |
| Tabla 44-3: Valores promedio de los resultados de levaduras en muestras de queso antes y después del proceso de salado. | 86 |
| Tabla 45-3: Resultado de Salmonella en quesos. | 88 |
| Tabla 46-3: Resultados de la medición en el espectrofotómetro muestras de salmuera. | 89 |
| Tabla 47-3: Resultados de la conductividad eléctrica de las muestras de salmuera. | 90 |
| Tabla 48-3: Resultados de tratamientos con cloro y calor a muestra de sal usada. | 91 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1-1: Efectos del proceso de salado en el queso.. | 10 |
| Figura 1-2: Mapa de ubicación de la parroquia Quimiag. | 23 |

ÍNDICE DE GRÁFICOS

| | |
|---|----|
| Gráfico 1-3: Valores promedios de los resultados de ATP expresado en RLU de las tinas de salmuera superior e inferior. | 48 |
| Gráfico 2-3: Valores promedios de los resultados de ATP expresado en RLU de las lonas de sal vertidas en las tinas. | 49 |
| Gráfico 3-3: Resultados de ATP en mesón utilizado para escurrimiento de quesos expresado en RLU..... | 50 |
| Gráfico 4-3: Valores promedio de resultados de ATP en superficies vivas expresadas en RLU. | 52 |
| Gráfico 5-3: Valores promedio de resultados de <i>Staphylococcus aureus</i> en muestras de manipuladores. | 54 |
| Gráfico 6-3: Valores promedio de resultados de Aerobios mesófilos en muestras de manipuladores. | 55 |
| Gráfico 7-3: Valores promedio de resultados de Enterobacterias en muestras de manipuladores. | 57 |
| Gráfico 8-3: Valores promedio de resultados de coliformes y <i>E. coli</i> en muestras de manipuladores. | 58 |
| Gráfico 9-3: Valores promedio de resultados de mohos y levaduras en muestras de manipuladores. | 60 |
| Gráfico 10-3: Valores promedio de resultados de mohos y levaduras en muestras de ambiente. | 61 |
| Gráfico 11-3: Valores promedio de resultados de <i>Staphylococcus aureus</i> en muestras de salmuera. | 64 |
| Gráfico 12-3: Valores promedio de los resultados de <i>Staphylococcus aureus</i> de los quesos antes y después del proceso de salado. | 66 |
| Gráfico 13-3: Valores promedio de resultados de Aerobios mesófilos en muestras de salmuera. | 69 |

| | |
|--|----|
| Gráfico 14-3: Valores promedio de los resultados de aerobios mesófilos de los quesos antes y después del proceso de salado..... | 71 |
| Gráfico 15-3: Valores promedio de resultados de Enterobacterias en muestras de salmuera.... | 74 |
| Gráfico 16-3: Valores promedios de los resultados de E. coli y coliformes en muestras de salmuera de la tina superior..... | 75 |
| Gráfico 17-3: Valores promedios de los resultados de E. coli y coliformes en muestras de salmuera de la tina inferior..... | 76 |
| Gráfico 18-3: Valores promedio de los resultados de E. coli en quesos antes del proceso de salado. | 79 |
| Gráfico 19-3: Valores promedio de los resultados de E. coli en quesos después del proceso de salado. | 80 |
| Gráfico 20-3: Valores promedio de los resultados de coliformes en quesos antes y después del proceso de salado. | 81 |
| Gráfico 21-3: Valores promedios de resultados de mohos y levaduras en muestras de salmuera de la tina superior..... | 83 |
| Gráfico 22-3: Valores promedios de resultados de mohos y levaduras en muestras de salmuera de la tina inferior..... | 84 |
| Gráfico 23-3: Valores promedio de los resultados de mohos en muestras de queso antes y después del proceso de salado. | 86 |
| Gráfico 24-3: Valores promedio de los resultados de levaduras en muestras de queso antes y después del proceso de salado..... | 87 |

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: Plano Arquitectónico de la Quesera Artesanal de la Parroquia Quimiag

ANEXO B: Mapa de distribución de la quesera artesanal

ANEXO C: Proceso de elaboración de quesos

ANEXO D: Evidencias fotográficas

RESUMEN

El objetivo de ésta investigación fue evaluar el efecto de la salmuera sobre la calidad microbiológica de los quesos frescos artesanales elaborados en una quesera rural de Quimiag – Chimborazo. Se realizó la evaluación en un período de 8 días, donde el día 0, correspondiente al día de limpieza y preparación de salmuera, se determinó: el nivel de contaminación de las superficies vivas e inertes mediante la medición de ATP; la carga microbiana de muestras de ambiente, de la materia prima utilizada para la preparación de salmuera (agua pasteurizada, agua en reposo, sal nueva y sal usada) y de los quesos antes y después de su inmersión en ella, mediante microorganismos indicadores como: aerobios mesófilos, mohos y levaduras, coliformes/*Escherichia coli*, Enterobacterias y *Staphylococcus aureus*; y la detección de la presencia de *Salmonella* únicamente en el caso del producto elaborado. Los muestreos continuaron los días: 1, 3, 5, 7, 9, 11 y 12. Los resultados obtenidos evidenciaron la falta de asepsia en superficies desde el día 0, tras presentar Unidades Relativas de Luz (RLU) mayores a 10. La salmuera presentó carga microbiana inicial y en ascenso en el transcurso de los días, lo que afectó la calidad de los quesos después del salado, considerándose un foco de contaminación. Se estableció que, la calidad microbiológica de la salmuera fue deficiente y, en el caso de los quesos, ninguno fue considerado para consumo humano, porque los microorganismos especificados en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1528:2012 excedieron el límite permisible, a excepción de *Salmonella* que no se detectó. Se recomienda realizar análisis microbiológicos periódicos de las salmueras y capacitar al personal en materia de Prácticas Correctas de Higiene (PCH) y Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), para mejorar los procesos y asegurar la inocuidad del producto.

PALABRAS CLAVE: <MICROBIOLOGÍA>, <BIOQUÍMICA>, <SALMUERA>, <QUESERA>, <QUESO FRESCO>, <MICROORGANISMOS>, <CALIDAD>, <ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR LOS ALIMENTOS (ETA)>.

SUMMARY

The objective of this investigation was to calculate the effect of the brine on the microbiological quality of the fresh artisanal cheeses made in a rural cheese-pot of Quimiag- Chimborazo. The evaluation was made in a period of 8 days, where the 0 day corresponding to the day of cleaning and preparation of brine, was determined: the level of contamination of the living and inert surfaces by measuring adenosine triphosphate (ATP); the microbial load of environment samples of the raw material used for the preparation of brine (water pasteurized, water at rest, new salt and salt used) and cheeses before and after immersion in it by indicator microorganisms such as mesophilic aerobic, molds and yeasts, *Escherichia coli*/ hetero bacterial coliforms and *staphylococcus aureus*, and detection of the presence of salmonella only in the case of the processed product. The samplings continued on days 1, 3, 5, 7, 9, 11 and 12. The results obtained showed the lack of asepsis on surfaces since 0 day, after presenting relative light units (RLU) greater than 10, brine with micro load bacterial initial and rising during the days, which affected the quality of the cheeses after salting, considered a source of contamination. It was established that the microbiological quality of the brine was deficient, in the case of the cheeses none was considered for human consumption because the microorganisms specified in the Ecuadorian technical norm NTE INEN 1528: 2012 exceeded the permissible limit except for salmonella that was not detected. It is recommended to carry out periodic microbiological analyzes of the brines and to train the staff on good hygiene practices (HCP) and good manufacturing practices (GMP), to improve the processes and ensure the safety of the product.

KEYWORDS: <MICROBIOLOGY>, <BIOCHEMISTRY>, <BRINE>, <ARTISAN CHEESE FACTORY>, <FRESH CHEESE>, < MICROORGANISMS>, <QUALITY>, <FOODBORNE ILLNESSES>.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por los alimentos, son una de las causas más frecuentes de consultas médicas, hospitalizaciones, tratamientos e intervenciones del Sistema Sanitario; si bien calcular su incidencia de manera precisa resulta complicado, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que en el año 2014 ocurrieron 2,2 millones de muertes asociadas a éstas patologías, prevalentemente en niños menores de 5 años, aunque éstos solamente representan el 10% de la población en todo el mundo, son el grupo etario más afectado por éstas enfermedades, ya que de la totalidad de casos anuales que rondan los 600.000, representan del 30% - 32% es decir alrededor de 155.000 defunciones, convirtiendo éstos padecimientos en un problema creciente de Salud Pública alrededor del mundo; así mismo se ha calculado que 1 de cada 10 habitantes se enferma o se encuentra enfermo por la ingesta de alimentos contaminados (Organización Mundial de la Salud, 2015, p.3).

En el año 2017 en Ecuador, se registraron más de 612.000 casos de ETA, de los cuales 225.000 se produjeron en la Región Sierra, donde las provincias de Pichincha, Azuay y Chimborazo fueron las zonas que presentaron un mayor número de incidentes, con más de 54.000, 34.000 y 22.000 casos asociados a éstas patologías respectivamente; revelando así que predominan por encima de las provincias de Cañar, Carchi, Tungurahua, Loja, Imbabura, Bolívar y Cotopaxi que pertenecen a ésta misma región del país (Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica, MSP, 2014, p.1).

Los representantes de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), han dictaminado que las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) son un problema que se da tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, con más énfasis en los últimos; cuyo principal problema son las condiciones higiénico-sanitarias en las que se elaboran los productos lácteos (Calderón, 2006, p.73). Aunque en el país actúa la Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica que se encuentra anexada al Ministerio de Salud Pública, no se puede conocer a ciencia cierta el número de incidencias porque aún la percepción del Sistema de Salud acerca de los alimentos como la etiología de ciertas enfermedades no se asienta todavía (Nutrition Center for Food Safety - Applied, 2015, pp.3-4).

Según el Ministerio de Salud Pública (MSP), la fiebre tifoidea y paratifoidea, las enfermedades diarreicas, hepatitis A, salmonelosis, shigelosis y los síndromes diarreicos agudos, son consideradas las ETA más comunes en la región, recalcando que son las enfermedades diarreicas las que tienen una mayor ocurrencia, debido a que su incidencia se mantiene de manera casi invariable alrededor de 550.000 casos anuales desde el año 2009 hasta el 2017 en todo el país

(Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica, MSP, 2014, p.1).

Se ha contemplado que, los vehículos más comunes de éstas enfermedades son: la carne bovina, huevos, carne porcina, carne de aves, pescado, crustáceos, moluscos o productos lácteos; siendo éstos últimos los causantes del 48% de ellas, ya sea por su microflora bacteriana o por el contacto directo que tiene con distintos manipuladores hasta llegar a su lugar de destino (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO), 2015 pp.1-2).

El Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC), estimó que la región con mayor participación en las actividades agropecuarias que involucran leche o la elaboración de sus derivados, es la Sierra con un 72% de la producción a nivel nacional, seguida por la Costa con 18% y finalmente el Oriente con 10% de la producción total (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos 2016, p.12), se ha estimado que diariamente en el país se procesan 6,3 millones de litros diarios de leche, de los cuales 1,5 a 2 millones de litros que corresponde del 25% al 32%, se destinan especialmente para la denominada “producción bruta”, donde se envía a la industria para la elaboración de derivados lácteos con un 7% y, 19% de la misma para procesos de pasteurización de leche fluida. El 75% restante, está destinada para consumo local con un 39% y el 35%, para las empresas artesanales que elaboran yogurt, nata, mantequilla, queso; en especial el conocido queso fresco, siendo éstas un sector del comercio presente, pero descuidado y un punto esencial de control para garantizar alimentos inocuos (Contero, 2008, p.2).

Las actividades de las microempresas artesanales destinadas a la elaboración de quesos de gran variedad y valor nutricional, ha aumentado conforme incrementa el volumen de su recepción de leche según el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP); pero, si bien el sector presenta un mayor dinamismo, el principal problema a presentarse es que éste producto puede convertirse en una fuente de infecciones alimentarias si en su elaboración no se tomaron las medidas higiénicas adecuadas para poder asegurar su inocuidad al momento de ser adquirido por el consumidor ya que a mayor volumen, se tiene menor capacidad de control de la totalidad de productos (Ministerio de Agricultura Ganadería Acuacultura y Pesca y Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad 2013, p.5).

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO) (2015, p.9), alrededor del mundo se producen 18 toneladas de queso anuales, valor que se incrementará conforme transcurra el tiempo, debido a que se ha calculado que para el año 2020 su consumo llegará a las 25 toneladas por año. La Revista Líderes (2015, pp.1-2), estableció que desde el 2006 al año 2014 la demanda de éste producto por el Ecuatoriano promedio se duplicó, pasando de 0,75 a 1,57 kilos según señalan las estadísticas; si bien hay variaciones en cuanto a qué tipo de queso

consumen, el de mayor popularidad es el queso fresco; como consecuencia de ésta actividad el impacto económico también ha sido notorio al momento de percibir sus ganancias, ya que en el 2014 se recaudaron más de 200 millones (Velez, 2016, p.1).

Uno de los pasos dentro de la elaboración de quesos, es su hundimiento en salmuera, la misma que le provee de su sabor salado característico dependiendo de su tipo; pese a que el uso de éste ingrediente es común, el principal inconveniente que se presenta, es que no existe en Ecuador o América Latina una normativa o manual que permita determinar el tiempo de vida útil, su contenido máximo de microorganismos o los parámetros físico-químicos que debería tener, provocando que tanto los productores mayores o menores no puedan dictaminar por cuánto tiempo ésta va a mantener las características necesarias para que no se convierta en un factor determinante de contaminación del queso al momento de su producción, y que ello conlleve a transmitir enfermedades a la población en general, pero especialmente a los grupos poblacionales considerados como los más frágiles como son: ancianos, niños y mujeres embarazadas (Pontín, Barraza y Bruschi, 2017, p.7).

Debido a lo mencionado anteriormente, se pretende evaluar la calidad microbiológica de la salmuera mediante el uso de placas Petrifilm y sus metodologías estandarizadas para microorganismos aerobios mesófilos, coliformes totales, *Escherichia coli*, mohos y levaduras, y *Staphylococcus aureus* para establecer una base en la cual se puedan apoyar las queseras artesanales para conocer acerca de la vida útil que puede tener antes de que se convierta en un foco infeccioso para los quesos que pasan por ella.

En relación con lo antes mencionado también se pretende realizar la evaluación de los quesos frescos antes y después del proceso de salado para conocer su calidad microbiológica según los parámetros establecidos en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1528:2012 Norma general para quesos frescos no madurados. Requisitos; y dictaminar la relación entre ellos y los resultados de los análisis de salmuera (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2012, p.7).

Éste trabajo de investigación se lo llevó a cabo y desarrolló en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo bajo la tutoría del Grupo de Investigación y Desarrollo en Seguridad Alimentaria, (SAGID).

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo General

Evaluar el efecto de la salmuera sobre la calidad microbiológica de los quesos frescos artesanales en una quesera de la parroquia rural de Quimiag – Chimborazo.

Objetivos Específicos

- Determinar el nivel de limpieza de las superficies inertes y vivas que se encuentran en contacto con la salmuera a través de la medida de Adenosín Trifosfato (ATP).
- Establecer la calidad de la salmuera en base a los niveles de microorganismos indicadores de la calidad higiénica a través del tiempo desde su preparación en los días 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11 y 12.
- Cuantificar la carga microbiana en términos de indicadores de calidad higiénica en los quesos antes y después de ser sumergidos por un máximo de 60 minutos en la salmuera, en los días de producción 1, 3, 5, 7, 9 y 11.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Bases Teóricas

1.1.1 *Leche*

La leche es definida como un producto de secreción, resultado del ordeño higiénico de las glándulas mamarias; generalmente ésta denominación suele darse a la leche de vaca y, cuando es de otro tipo de animal, solamente se detalla su nombre, pudiéndose obtener de oveja, cabra, yegua, tejón, entre otros; por lo que se considera que la variedad de origen animal es muy amplia (AGROCALIDAD, 2015, pp.94-97).

Aunque los actuales procesos industriales que la involucran son variados y complejos, anteriormente la falta de conocimiento acerca de la conservación de sus componentes provocaba que sus derivados se enfocaran principalmente en productos como la mantequilla y nata; a medida que fue pasando el tiempo, tanto la necesidad económica concatenada al avance industrial, llevaron al aumento de derivados lácteos, los cuales se resumen en la Tabla 1-1.

Tabla 1-1: Principales derivados lácteos.

| PRODUCTO | TRATAMIENTO | VARIACIÓN |
|--|--|--|
| Leche de consumo exenta de modificación. | Térmico. Desnatado parcial. | Leche caliente. Leche parcialmente desnatada. |
| Leches obtenidas mediante procesos de concentración. | Acción térmica y procesos de liofilización. | Leche evaporada. Leche condensada. Leche desecada. |
| Leches de consumo con modificación. | Procesos de adición, sustitución o procesos mecánicos. | Leches estériles. Leches fermentadas. Leches reconstituidas. |
| Nata | Centrifugación o reposo. | Nata natural. |
| Mantequilla | Proceso mecánico que involucra mezclado rápido de la grasa separada de la leche. | Mantequilla fundida. |
| Queso | Coagulación de la leche de consumo. | Queso en dependencia del |

| | | |
|------------------------------|-----------------------|---|
| | | animal del que se obtenga. Quesos especiados. Quesos madurados, blandos, semiblandos, duros, frescos. |
| Derivados del suero de leche | Coagulación de leche. | Queso de suero. Requesón. |
| Derivados lácteos mejorados | Nuevos procedimientos | Pastas de leche. Proteínas lácticas. |

Fuente: (Grosch y Haiden-Britt, 2008; Ahmed y Nawal, 2011)

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

1.1.2 *Queso*

Según Ramírez y Vélez (2014, p.132), el queso es un producto alimenticio nutritivo, resultado de la coagulación típicamente de la leche de vaca, pudiendo ser también de otros tipo de animales mamíferos.

Se obtiene gracias al uso de cuajo o de otro tipo de coagulantes que permitan respetar su principal característica que es la poseer una alta concentración de proteínas lácteas esencialmente la caseína, en consecuencia dicha cantidad deberá ser mayor a la del líquido lácteo del que proviene, ya que éste se considera su aglutinación proteica (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2012; Universidad de Almería, 2013).

El mercado del queso como ingrediente o producto alimentario ha ido en aumento conforme avanza el tiempo, se desarrollan las tecnologías e incrementa el ingenio del hombre. Pero de manera general, la importancia que tiene su elaboración en cada país independientemente de su variedad, radica en 5 puntos esenciales como lo indica la Universidad Autónoma de México (2007, p.6): Permite la generación de trabajo y por ende la alimentación del sector económico mediante su actividad. Ayuda a una mejor conservación de los componentes de la leche y, en consecuencia otorga que las zonas con climas variables puedan alimentarse de ellos. Aporta variedad al mercado alimentario como otra forma no convencional de utilización de leche. Permite que zonas con producción propia puedan destinar cierto volumen a su elaboración y obtener mayor variedad y por último, dicho volumen puede ser receptado en los centros de acopio, de modo que hay una retroalimentación entre el productor y el mercado artesanal e industrial, así no hay pérdida para ninguna de las partes involucradas.

En Ecuador, el consumo de queso así como su elaboración, va ligada a la actividad económica como el resto de sus sectores de producción, si bien las fluctuaciones pueden ser muy marcadas;

en el año 2017, la industria lechera presentó un mejor desempeño, básicamente gracias a dos factores: el primero, es el lanzamiento de nuevos productos por parte de algunas empresas con su respectivo registro sanitario, que le confiere mayor fiabilidad y la campaña del Gobierno actual por promover un estilo de vida saludable en los ecuatorianos, siendo así que gran parte de éste dinamismo es de su responsabilidad, ya que al adquirir productos lácteos para escuelas, promover campañas, aumentar descuentos y disminuir precios, tiene como resultado una mayor demanda del producto (EL COMERCIO, 2017, p.2).

Cabe destacar que las dos innovaciones responsables de mejorar la calidad de los quesos en la industria son: la pasteurización de leche, para eliminar los microorganismos que pueden producir enfermedades en conjunto con el uso de cultivos confiables que permiten reacciones de tipo fermentativos y los procesos de refrigeración, los cuales les confieren un mayor tiempo de vida útil, sin que se degraden sus características físicas u organolépticas (Organisation for Economic Co-operation and Development, 2002, pp.19-22).

1.1.2.1 *Clasificación de los quesos*

Los quesos son derivados lácteos de gran diversidad, pero de manera global pueden dividirse según los siguientes criterios, como se detalla en la Tabla 2-1:

Tabla 2-1: Tipos de Queso.

| CRITERIO | TIPO |
|-----------------------------------|---|
| Por su procedencia | En dependencia del país donde se elabore. |
| Por su sistema de elaboración | Quesos Artesanales Quesos Industriales |
| Por el tipo de leche | Quesos elaborados con leche no modificada de consumo. Quesos elaborados con leches adicionadas. |
| Por su contenido de materia grasa | Queso magro ($\leq 20\%$ nata) Queso bajo en grasa (10 – 25% grasa) Queso semigraso (25 – 45% grasa) Queso graso (45 – 60% grasa) Queso extragrasso ($\geq 60\%$ grasa) |
| Por su humedad | Queso blando ($\geq 69\%$) Queso semiblando (60 – 69%) Queso curado ($\leq 59\%$) |
| Por su consistencia | Queso duro (masa consistente) Queso semiduro (masa consistente fácil de cortar) |

| | |
|-------------------|---|
| | Queso blando (cremoso) Queso semiblando (quebradizo) Queso muy blando (bajo contenido de materia grasa) |
| Por su maduración | Queso fresco (≤ 5 días) Queso semimaduro (35- 40 días) Queso madurado (≥ 70 días) |

Fuente: (Universidad Autónoma de México, 2007; Corporación CATALPA, 2010; Ramírez y Vélez, 2014)

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

1.1.3 *Queso fresco*

También denominado “blanco” la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1528:2012, lo define como un queso de consistencia granular cuya base de elaboración es la leche entera, descremada o semidescremada, que se ha obtenido mediante procesos de coagulación mediante la utilización de enzimas y ácidos de naturaleza orgánica, o cada uno por separado y, que tampoco han utilizado bacterias ácido lácticas (BAL) para su obtención (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2012, p.1).

Complementando lo anterior, de acuerdo a lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994; dictamina que los llamados quesos frescos o frescales deben carecer de cualquier sabor u olor diferente al de la materia prima utilizada para su producción y, añadido a ello, también deberán ser de consistencia suave para que puedan ser untados (Estados Unidos Mexicanos - Secretaría de Salud, 2005, pp. 3-4).

1.1.4 *Elaboración de queso fresco*

1.1.4.1 *Leche íntegra*

Al momento de la recepción de la leche, se le hacen pruebas organolépticas y de calidad como pH, acidez, prueba de antibióticos, detección de sólidos, entre otros; de ese modo se puede establecer si es que ésta es apta para pasar a los procesos posteriores que involucran la elaboración de sus derivados. Una vez que ha sido aprobada, es homogeneizada para asegurar un líquido más uniforme en la etapa de producción y filtrada mediante la utilización de una tela, la cual impedirá el paso de objeto extraños (Zamorán, 2012, p.35).

1.1.4.2 *Pasteurización*

Es un proceso térmico considerado como el más importante de la cadena de producción, donde se lleva la leche a una temperatura de 62 a 66 °C durante un lapso de tiempo de 30 minutos con el objetivo de eliminar toda la carga microbiana patógena que pudiese haber y garantizar que todas sus propiedades nutricionales se mantengan; cuando éste proceso no se lleva a cabo se dice que el queso está fabricado con leche cruda, el cual puede ser consumido sin que signifique un riesgo para la salud, si es que ha pasado un período mayor a 60 días de curación, solamente bajo esas condiciones puede ser aceptado (Programa Cooperativo de Desarrollo Rural para América Latina y el Caribe, 2013, pp.14-17).

1.1.4.3 *Atemperado*

También denominado proceso de enfriamiento, se basa en hacer circular agua fría por las paredes del contenedor de acero inoxidable de leche para que pueda alcanzar una temperatura de 37 °C, o a su vez puede dejarse en reposo para que se enfríe sola. No se puede garantizar que ésta no va volver a contaminarse y por ello es recomendable contar con equipos para acelerar el proceso y así comenzar la elaboración de quesos; cabe destacar que los demás pasos deben ser realizados bajo estrictas normas de higiene, de esa forma el proceso de pasteurización no habrá sido en vano (Zamorán, 2012, p.37).

1.1.4.4 *Mezclado*

Éste paso se basa en mezclar la leche enfriada con cloruro de calcio (CaCl_2) el cual es considerado como un aditivo alimentario, para que pueda recuperar su capacidad aglutinante cuando se le añada el cuajo, ya que al momento de ser pasteurizada pierde dicha característica y éste coadyuvante le permite restaurar su contenido de calcio. Generalmente se le añade entre 0,1 - 0,3 g por cada litro de leche (Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, 2017, p.1).

1.1.4.5 *Coagulación*

Para que se produzca la aglutinación de las micelas de la caseína, es necesaria la adición de cuajo que puede ser de origen animal o vegetal y/o fermentos lácticos; todo en dependencia de la variedad de queso a ser elaborado. Como resultado se obtiene una masa de consistencia gelatinosa

porque la leche pasa de su estado líquido habitual a un estado semisólido. De manera general, el mayor problema que presenta éste paso tanto a nivel industrial como artesanal es su cantidad, ya que por disminuir el tiempo de espera suele añadirse más de lo recomendado, y si éste es agregado en demasía, como resultado se obtiene un queso duro pero incapaz de mantener su forma porque se quiebra (Universidad de Zulia, 2003, pp.9-11).

1.1.4.6 Corte, agitación y desuerado

La razón principal para el corte del queso en liras o pedazos pequeños con un cuchillo, es debido a que permite que la cuajada pueda liberar mayor cantidad de suero; el tamaño de los pedazos dependerá exclusivamente del tipo de queso que se quiere elaborar; pasado el lapso de 5 minutos, se lleva a cabo la agitación, la cual permite que los gránulos no se unan y puedan seguir permitiendo la salida de lactosuero; por último el desuerado consiste en eliminar todo lo exudado por la cuajada; dependiendo de los operadores, ésta actividad no presenta pérdida económica, debido a que el líquido recolectado puede destinarse a la elaboración de requesón o como base de alimento para porcinos (Valenzuela, 2011, p.18).

1.1.4.7 Salado

Este proceso tiene como fin proveer el sabor característico a los quesos, evitar que la carga microbiana proliferen, facilitar el exudado de lactosuero y promover la formación de su corteza exterior, como se puede apreciar en la Figura 1-1 (Hernández, 2009, p.78).

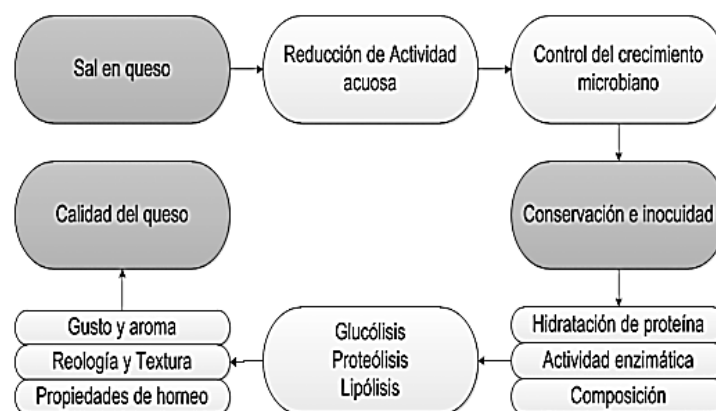


Figura 1-1: Efectos del proceso de salado en el queso..

Fuente: (Ramírez-Navas et al. 2016).

El salado de los quesos puede realizarse de distintas maneras, las cuales se detallan, en la Tabla 3-1:

Tabla 3-1: Formas de agregar sal a los quesos.

| FORMA DE SALADO | | DETALLE |
|----------------------|-----------------------------------|--|
| SALADO DIRECTO | Salado de suero | Se agrega sal directamente a la tina donde se vaya a añadir el cuajo y se procede normalmente. |
| | Salado de la masa de queso | A los pedazos que han exudado el lactosuero se les añade sal y se amasa. |
| SALADO EN SECO | Salado en la superficie del queso | Aplicado a quesos pequeños, se los cubre con una capa de sal para que ésta migre al centro. |
| SALADO POR INMERSIÓN | Salado por paso en salmuera | Hundimiento de los quesos prensados en una preparación de agua saturada de cloruro de sodio; dependiendo del tipo de queso se establece el tiempo. |

Fuente: (Universidad de Zulia, 2003, p.12)

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

1.1.4.8 *Prensado*

Permite dar la forma característica a los quesos, porque ayuda a la unión de los granos resultado de la coagulación para tener un producto compacto; a nivel industrial se lo hace mediante procesos mecánicos que permiten eliminar todo el aire atrapado en el interior. Generalmente en las queseras artesanales lo hacen con moldes de acero inoxidable y pesas, las mismas que serán colocadas por un período de tiempo entre 2 – 3 horas y se los refrigera no por más de 6 días (Programa Cooperativo de Desarrollo Rural para América Latina y el Caribe, 2013, p.16).

1.1.4.9 *Empacado*

Una vez el queso mantiene su forma y posee el sabor deseado, se procede a empacarlo, habitualmente en envoltorios plásticos al vacío que mantengan su forma, eviten deformaciones y detallen su variedad, gramaje, tiempo de vida útil, indicaciones de almacenamiento e información de la empresa productora (Zamorán, 2012, p.43).

1.1.5 *Requisitos generales de los quesos frescos*

Tomando en cuenta lo establecido por la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1528:2012 Norma General para quesos frescos no madurados. Requisitos. Los ingredientes que pueden ser utilizados para su elaboración son: bacterias ácido lácticas (BAL) u otros microorganismos de carácter inocuo; coagulantes idóneos, cloruro de sodio y ácido acético (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2012, p.3).

En lo que respecta a sus propiedades organolépticas; en cuanto a su apariencia, deberá ser de textura blanda, pero no deformarse, libre de colorantes, que pueda ser desmenuzado y que posea un sabor lácteo ligero (Ramírez y Vélez-Ruiz, 2012, p.135).

1.1.5.1 *Parámetros microbiológicos de los quesos frescos*

Para que los quesos frescos elaborados en el país, puedan ser considerados de consumo, y que eso no conlleve a un riesgo en la salud; la NTE INEN 1528:2012 establece los límites permitidos según el microorganismo considerado como requisito indispensable de evaluación resumidos en la Tabla 4-1 (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2012, p.4).

Tabla 4-1: Requisitos Microbiológicos de los quesos frescos.

| Requisito | n | m | M | c | Método de ensayo |
|------------------------------|---|-----------------|--------|---|------------------|
| Enterobacteriaceas, UFC/g | 5 | 2×10^2 | 10^3 | 1 | NTE INEN 1529-13 |
| Escherichia coli, UFC/g | 5 | <10 | 10 | 1 | AOAC 991.14 |
| Staphylococcus aureus UFC/g | 5 | 10 | 10^2 | 1 | NTE INEN 1529-14 |
| Listeria monocytogenes /25 g | 5 | ausencia | - | | ISO 11290-1 |
| Salmonella en 25g | 5 | AUSENCIA | - | 0 | NTE INEN 1529-15 |

Fuente: (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2012)

1.1.6 *Microorganismos indicadores de la calidad higiénica*

En la elaboración de alimentos ya sea a nivel industrial o artesanal, es necesario evaluar la calidad

microbiológica tanto de las superficies vivas como inertes, su entorno y del producto terminado; ésto da conocer la situación real de la carga microbiana a la que se exponen los procesos, qué precauciones tomar, qué evitar e implementar para garantizar inocuidad de toda la cadena de elaboración así como la del producto final (Figuerola y Sánchez, 2007, p.3).

1.1.6.1 *Staphylococcus aureus*

Son microorganismos pertenecientes a la familia *Staphylococcaceae*, miden entre 0,6 – 1,2 µm, poseen forma de coco y tienen la capacidad de formar una capa externa protectora de consistencia semisólida que les confiere mayor resistencia y así producir infecciones en sus hospedadores de sangre caliente, si es que éstos se encuentran con sus defensas inmunológicas bajas (Fuentes y Moreno, 2011, pp.25-27).

Su pH óptimo de crecimiento es de 7,2 a 8; tiene la capacidad de sobrevivir en ambientes muy salinos porque puede regular su consumo de sal y pueden ser eliminados si se ven expuestos a altas temperaturas alrededor de 60 °C, también por el uso de desinfectantes y de sustancias antisépticas; en cuanto a sus enterotoxinas, una vez se encuentran en el alimento, no pueden ser eliminadas, sino inactivadas por acción del calor (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2012, pp.16-17).

1.1.6.2 *Aerobios mesófilos*

Éste grupo se caracteriza por su capacidad de multiplicación en presencia de oxígeno a temperaturas que oscilan desde los 20 °C hasta los 40 °C. Se consideran como indicadores de las condiciones higiénico-sanitarias, malas prácticas de manipulación y deterioro o alteración de la materia prima o producto donde se detecten (Zamorano, 2002, p.9).

Cabe recalcar que su determinación suele hacerse en mayor cantidad a productos alimenticios RTE (*Ready To Eat*) o listos para comer; que tienen períodos de almacenamiento prolongado, entre otros (Figuerola y Sánchez, 2007, p.17).

1.1.6.3 *Enterobacterias*

Son bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos que forman parte de la microbiota intestinal

de los seres humanos, son considerados como oportunistas, debido a que una vez detectan una disminución de las defensas del organismo, producen infecciones que pueden llegar a comprometer todo el tracto digestivo, ya que se encuentran colonizando desde la orofaringe (Algorta, 2014, p.1).

Crece idealmente a temperaturas de 7 °C – 28 °C con un pH de 6,5 – 8. Tomando en cuenta su importancia a nivel clínico, los géneros más importantes son: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Yersinia*, *Proteus*, *Shigella* (Puerta-García y Rodríguez-Mateos, 2010, p.3426).

1.1.6.4 *Salmonella*

Son bacilos Gram negativos que producen las denominadas Salmonelosis; típicamente ingresan al organismo por vía oral y los alimentos más comunes que la portan son los huevos y la leche cruda. Es resistente a las condiciones ambientales y puede producir cuadros de gastroenteritis aguda, ya que invade a la célula y su multiplicación la lleva a cabo en su interior, esto le permite pasar a la sangre y desplazarse por el cuerpo. Los portadores son conocidos por ser asintomáticos (Algorta, 2014; Centro de Investigación en Sanidad Animal (CRESA), 2015).

1.1.6.5 *Mohos y levaduras*

Son eucariotas que crecen en medios salinos y producen micotoxinas que pueden llegar a provocar infecciones en el ser humano que sea sensible a ellas. Son quimioheterótrofos, poseen baja competitividad y ayudan a determinar un grado general de contaminación. La diferencia entre ambos, es que los mohos presentan micelios mientras más crecimiento tengan y las levaduras pueden encontrarse sueltas en distintas formas como óvalos, cilindros, estructuras alargadas (França, 2007, pp.105-111).

Crece idóneamente a temperaturas desde 20 °C hasta un máximo de 45 °C y en cuanto a su rango de pH ideal, se encuentra por debajo de 7, tendiendo a la acidez (Figuerola y Sánchez, 2007, p.16).

1.1.6.6 *Coliformes*

Son microorganismos que pertenecientes de la familia *Enterobacteriaceae*, tienen la capacidad de crecer en medios con tendencia a la neutralidad, es decir cuyo pH fluctúa entre 7 – 7,5, ya que

en ese intervalo se desarrollan de manera exponencial; también pueden hacerlo desde medios más ácidos, con un valor alrededor de 4; dentro de ellos, se encuentran algunos microorganismos indicadores de la calidad higiénica como: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* (División de Salud Pública de Carolina del Norte, 2015, p.1).

Los Coliformes Fecales son considerados como un subgrupo de los Coliformes Totales; provienen de las heces tanto de animales como de seres humanos y se encuentran en su tracto intestinal; éstas pueden producir trastornos gastrointestinales como diarrea, aumento del peristaltismo provocando dolor agudo, ictericia, vómito, entre otro tipo de síntomas (Marks y Roberts, 2003, p.4).

1.1.6.7 *Escherichia coli*

Son bacilos Gram negativos que pertenecen a los Coliformes Fecales, son responsables de más de 600 millones de patologías asociadas a la diarrea cada año, y su presencia tanto en muestras de alimentos como agua es un indicador de contaminación fecal y es el principal factor asociado a la calidad sanitaria (División de Salud Pública de Carolina del Norte, 2015, p.1).

Sus cepas consideradas patógenas son: *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC), causa la denominada diarrea del viajero, que es de consistencia muy líquida; *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC), ataca a neonatos y puede llevar a cuadros graves de deshidratación; *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC), que es la causante de colitis con el agravante de producir hemorragia y *Escherichia coli* enteroinvasiva (EIEC), produce síntomas muy parecidos a la Shigelosis, que se caracteriza por diarrea sin olor con presencia de moco y fiebre (Camacho et al. 2009, pp.2-4).

1.1.7 *Medición de ATP*

El Ensayo de Luc o también denominado de Bioluminiscencia, consiste en medir el Adenosín Trifosfato (ATP) en forma de luz de los microorganismos que se encuentran en superficies inertes o vivas. El ATP reacciona con un sustrato luciferina en presencia de la enzima catalizadora luciferasa (EC 1.13.12.7) que se encuentra en el bolo del hisopo; la luz emitida por esta reacción de carácter oxidativo es medida por un aparato llamado Luminómetro el cual informa las RLU (Unidades Relativas de Luz) (Sygula et al. 2014, pp.1-6).

Es particularmente utilizada en la industria alimentaria porque permite conocer las condiciones

de higiene de manera general, se utiliza en análisis HACCP (*Hazard Analysis and Critical Control Points*) y es el método más utilizado porque no consume tiempo para el proceso de muestreo y es simple en comparación con los procedimientos tradicionales microbiológicos (ADOX, 2010; Vang, 2013).

El principal inconveniente de éste método radica en que aunque detecta la presencia de carga microbiana en forma de biomasa, no puede cuantificarla y aún menos dictaminar si es que es patógena o no; los criterios de aceptación establecidos por Hygiena (2014, pp.1-8), pueden apreciarse en la Tabla 5-1 (Sygula et al. 2014, p.2).

Tabla 5-1: Resultados de medición con Luminómetro.

| RANGO DE RLU | CRITERIO DE ACEPTACIÓN |
|--------------|------------------------|
| 1 – 10 | Aprueba |
| 11 - 15 | Precaución |
| >16 | Reprueba |

Fuente: (Hygiena, 2014)

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

1.1.8 *Salmuera*

El salado de los alimentos es una técnica cuyo origen puede verse arraigado a la Prehistoria en conjunto con la fermentación y deshidratación; ya que si bien no se conocían sus fundamentos, eran practicados por ser efectivos para la conservación de sus alimentos (Reinheimer y Salazar, 2006, p.7).

La salazón o también denominado curado, se basa en el aprovechamiento de un aditivo que es la sal, ésta tiene la capacidad para preservar las propiedades de los alimentos y así evitar su deterioro, corresponde a los denominados “Métodos de conservación que alteran las propiedades de carácter sensorial”, debido a que modifica directamente su sabor y la estructura del tejido con el que se encuentra en contacto (Juliarena y Gratton, 2008, pp.4-6).

1.1.8.1 *Preparación de salmuera*

Tomando en cuenta de que la salmuera puede convertirse en un medio de contaminación del producto si no es tratada de manera adecuada, desde su preparación debe hacerse con ingredientes

inocuos para garantizar su calidad a lo largo del tiempo mediante controles; entre los componentes que son considerados de uso habitual por los operarios son: agua de consumo humano que haya pasado por un proceso de pasteurización para eliminar su carga microbiana patógena; sal común limpia y sales de calcio; la cantidad de cada uno de ellos dependerá del tipo de queso que se desee y los parámetros de la industria donde se elabore (Hernández, 2009, pp.23-26).

1.1.9 *Mecanismo de salación*

Como se ha detallado anteriormente, los quesos deben su sabor característico a la sal, ya que ésta es ampliamente utilizada por su capacidad de inhibir los sabores amargos detectados por las papilas gustativas; ésta percepción del sabor es gracias al catión sodio (Na^+) en un 70 – 85% y al anión cloruro (Cl^-) en un 15 – 30% (Guinee, 2004; Jonson y Paulus, 2005).

Básicamente éste proceso de salado, se produce por la difusión de la solución saturada de sal en el queso debido a la diferencia de presión osmótica, teniendo 3 casos: a un pH ligeramente ácido entre 5,5 - 6, los iones de Sodio (Na^+) se intercambian por los iones calcio (Ca^{+2}) de la caseína, dando lugar a un producto de consistencia suave. Si el pH es menor a 5, la cantidad de iones hidrógeno (H^+), será mucho mayor que los iones de calcio (Ca^{+2}) que se encuentren unidos a la caseína y permitirá que el sodio ingrese en mayor proporción, obteniendo un queso duro pero incapaz de mantener su consistencia. Y por último, si el pH es mayor a 6, habrá una mayor porción de iones calcio (Ca^{+2}) en la unidos a la caseína permitiendo que pueda vincularse iones de sodio (Na^+), produciendo un queso de consistencia blanda (Guinee y Fox, 2004; Ramírez-Navas et al. 2016).

1.1.10 *Factores a tomar en cuenta de la salmuera*

Aunque el proceso de salado mediante la utilización de salmueras es el más utilizado por su practicidad, debe tenerse claro los parámetros que deben ser controlados desde su preparación para evitar su rápido deterioro o envejecimiento que la destine a ser desechada, entre ellos se nombran: evaluación organoléptica, medición de acidez y pH; análisis microbiológico, control continuo de temperatura y cantidad de sal y revisión de su movimiento (Reinheimer y Salazar, 2006; Pontín, Barraza y Bruschi, 2017)

1.1.10.1 *Evaluación organoléptica*

En el caso de las grandes industrias, debe hacerse un análisis comparativo con la apariencia, olor y color en el día de su preparación; conforme pase el tiempo; ya que éstas deben contar con alguno de los mecanismos de filtración y pasteurización para alargar su vida útil (Pontín, Barraza y Bruschi, 2017, p.13).

1.1.10.2 *Medición de pH y acidez*

Puede realizarse mediante la utilización de equipos compactos como un pHmetro digital, el mismo que deberá asegurar que es un medio ácido en un rango de 5 – 5,5 ya que debe asemejarse al pH de los quesos (Pontín, Barraza y Bruschi, 2017, p.14).

En cuanto a la medición de acidez se realiza una titulación ácido-base con Hidróxido de Sodio (Na (OH)) con indicador Fenolftaleína; el resultado se expresa en Grados Dornic (°D) donde el máximo recomendable es de 30 °D para quesos duros, 40 °D para semiduros y 50 °D para blandos (Pontín, Barraza y Bruschi, 2017, p.14).

Los Grados Dornic, indican cuánto Hidróxido de Sodio se ha utilizado para titular 10 mL de salmuera en éste caso, cada grado es la equivalencia a 0,1 g/L de ácido láctico (Hanna HINTS, 2016, p.2).

1.1.10.3 *Análisis microbiológico*

Debido a que la salmuera puede considerarse un medio de crecimiento microbiano sin importar su saturación en sal, deben realizarse controles que permitan determinar la carga microbiana para establecer su tiempo de vida útil, ya que existen microorganismos que pueden subsistir y proliferar como: Mohos y levaduras, aerobios mesófilos, estafilococos, etc. Si bien hay métodos para eliminar los residuos que pueden disminuir la carga microbiana, no todas las empresas los ejecutan, por lo que el envejecimiento de la solución se da rápidamente (Pontín, Barraza y Bruschi, 2017, p.32).

1.1.10.4 *Control de temperatura y concentración de sal*

Se recomienda que la salmuera no se mantenga a altas temperaturas si no en un rango menor a 12 °C debido a que puede influir en la estructura del queso resultante del salado. Ya que el contenido de sal va a ir disminuyendo conforme pase el tiempo porque los quesos van a absorberla, debe regularse su concentración continuamente para que siga manteniendo su saturación en la solución; ésto se lo puede hacer mediante el uso de equipos de refractometría de fácil uso y manipulación que permitan su medición, como es el Refractómetro para Salmueras, densímetros pesa sal o salinómetros cuyos resultados se expresan en Grados Beaume (°Be); el principio de éste último que actualmente es el más utilizado, se basa en la altura a la cual flota el instrumento, lo cual revela la relación entre el volumen de líquido y el contenido de cloruro de sodio; expresando su concentración en 100 L de la solución saturada (Scheitler, 2010; Pontín, Barraza y Julieta, 2017)

1.1.10.5 *Revisión del movimiento*

Es recomendable que al momento de salar los quesos, la salmuera se mantenga en constante movimiento por dos razones: la primera se basa en impedir que se forme un sedimento de sal en la base y poder asegurar una distribución uniforme en toda la solución y la segunda, es por el aumento de absorción de sal por parte del queso; si es que la salmuera se encontrara estática, su eliminación de lactosuero forma un halo a su alrededor que provoca una disminución de la solución a absorberse (Martínez 2005; Pontín, Barraza y Bruschi, 2017).

1.1.11 *Importancia de la salmuera en el proceso de salado de quesos*

El proceso de salado de los quesos mediante la inmersión de los mismos en salmuera, se considera importante porque es un método de ejecución común en las queseras de tipo artesanal; el principal problema radica en que el desconocimiento acerca de su complejidad, impide que sus controles sean realizados de manera satisfactoria ya que debe evaluarse continuamente tanto su pH como su concentración de calcio porque ambos factores influyen directamente sobre la calidad del queso resultante (Universidad de Zulia, 2003; Jonson y Paulus, 2005).

La salmuera se considera como una solución saturada de cloruro de sodio, cuyo porcentaje va a variar dependiendo del tipo de queso que se elabore; siendo así que deberá ser entre 10 – 13% en el caso de los quesos blandos y de 21 – 23% para quesos duros; previo a su preparación se requiere mantener ciertas condiciones para asegurar que no se deteriore velozmente o tenga que ser desechada brevemente, como es la pasteurización del agua de preparación, control de la temperatura de la tina o estructura de acero inoxidable donde se encuentre para mantenerla en un

rango de 7 – 10 °C, pHmetro calibrado de medición rápida y un dispositivo Checker para la medición de calcio (Jonson y Paulus, 2005; Reinheimer y Salazar, 2006; Hernández, 2009).

El pH y la concentración de sales de calcio en la preparación son dos factores importantes a controlar porque su actuación los afecta entre sí; el pH influye directamente sobre el movimiento de los iones de calcio en la solución generando dos escenarios: cuando el medio es muy ácido, el calcio emigra del queso y el hidrógeno de la salmuera ingresa, haciendo que se forme una corteza firme porque las proteínas se contraen y encogen por ese fenómeno. Lo opuesto sucede cuando el pH es muy básico, las capas exteriores del derivado lácteo lucen brillosas, sean resbalosas y se vean pequeños bultos debido a que las proteínas se hinchan. Se recomienda que un rango de pH entre 4,5 – 4,8 es el adecuado para que el queso pueda absorber sal, sin perder humedad porque en ese intervalo sus poros se encuentran dilatados; en cuanto a las sales de calcio deben estar entre 0,2 – 0,5%. Y, en lo que respecta a su carga microbiana, aunque no se encuentre establecido, debería carecer (Jonson y Paulus, 2005, p.16).

1.1.12 Formas de aumentar el tiempo de vida útil de la salmuera

En la industria, es necesario controlar eficientemente la calidad de la salmuera para que no se convierta en un foco infeccioso post-producción de los quesos al momento del salado. Si bien no es posible basarse en normas, cada empresa determina su metodología, tiempo y formas de control que le permitan vigilar su estado. Reinheimer y Salazar (2006, p.16), establece que los parámetros que determinan su calidad son: contenido de carga microbiana, equilibrio entre cloruro de sodio y sales de calcio, lactosa, ácido láctico y proteínas del suero.

Las metodologías más utilizadas para prolongar el tiempo de vida útil de la salmuera a nivel industrial, se detallan en la Tabla 6-1.

Tabla 6-1: Métodos empleados para el tratamiento de salmueras.

| MÉTODO | CONCEPTO | ESTADO |
|--------------------------------|---|---|
| Filtración con Kieselguhr | Consiste en la utilización de Kieselguhr, la cual es una roca formada por algas fosilizadas; sus poros la hacen ideal para la filtración de líquidos. | Actualmente en desuso por problemas del medioambiente e innovaciones. |
| Filtración con tela | Se vierte la salmuera sobre una tela para retirar la grasa y sólidos suspendidos. | Poco usada. |
| Filtración de Flujo Tangencial | Es un filtro que retiene partículas de gran tamaño, el líquido pasa con movimientos circulares y no | Usada en industria. |

| | | |
|------------------------------------|--|--|
| | por presión contra él. | |
| Filtración MF (Microfiltración) | Se utilizan filtros con poros de 0,1 – 20 µm para evitar que pase carga microbiana cuyo tamaño oscila entre 0,2 – 6 µm; células somáticas (desde 6 µm); glóbulos de grasa (desde 0,2 µm) y micelas de caseína (desde 0,03 µm). | Actualmente usada en la industria por implementación de equipo con mecanismo de Presión Transmembrana Uniforme (PTU) que impide su taponamiento. |
| Tratamiento térmico | Se pasteuriza la salmuera filtrada en todos los casos anteriores a una temperatura de 60 °C por 30 minutos. | Muy usada para asegurar eliminación de microorganismos patógenos. |

Fuente: (Rossetti y O’Kane, 2001; Universidad de Zulia, 2003; Jonson y Paulus, 2005; Reinheimer y Salazar, 2006; Parmer, 2009; Hernández, 2009; Ramírez-Navas et al. 2016)

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Cabe destacar que los procesos mencionados anteriormente, son ejecutados por las diferentes empresas en medida de su capacidad adquisitiva y de producción.

1.1.13 *Medición Espectrofotométrica*

La medición espectrofotométrica UV de una solución, da a conocer cuánta luz absorbe, en base a la Ley de Lambert – Beer, que establece que mientras más denso es el medio que se quiere medir, menor va a ser éste valor de absorbancia y mayor su transmitancia, porque son inversamente proporcionales (Arenas y López, 2004, pp.2-3).

La longitud de onda a la que se configura el equipo para la medición va a depender de la sustancia a ser medida, pero, en el caso de que ésta técnica se utilice para conocer acerca de la carga microbiana es de 600 nm, esto es debido a que según Widdel (2007, p.9), hay bacterias que producen una sustancia de color amarillento que puede ser detectada a longitudes de onda menores, por ello, para evitar ésta interferencia se lo hace a la longitud de onda detallada anteriormente. Cabe destacar que no es un método 100% fiable porque también va a depender de los sólidos totales suspendidos y dispersos en ella.

1.1.14 *Medición de Conductividad Eléctrica*

La medición de conductividad eléctrica en la solución de salmuera permite conocer su concentración de sal, debido a que de ésta dependerá su capacidad para conducir corriente, ya que son directamente proporcionales a su contenido de iones positivos como sodio (Na^+), y negativos como el cloruro (Cl^-) (Oleas, 2015, p.6).

Éste valor obtenido de la medición, una vez sea calculado, va a permitir conocer los mg o g de sal en la solución (Blanco, 2002, pp.4-8).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1 Lugar de la investigación

La toma de muestras de materia prima (agua y sal), salmuera, producto en proceso (queso), ambiente, superficies inertes y vivas, se realizó en una quesera artesanal en la Parroquia Quimiag, Provincia de Chimborazo.

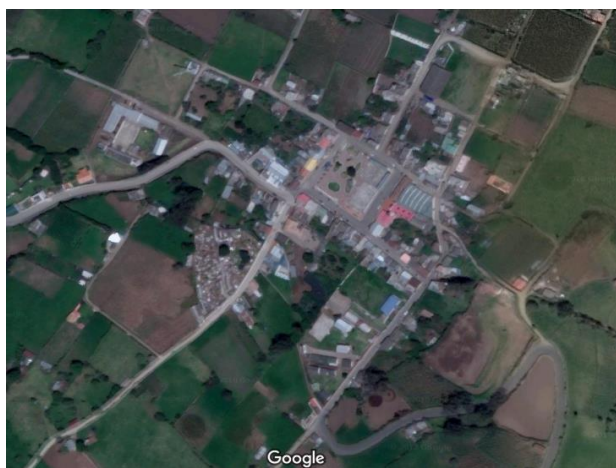


Figura 1-2: Mapa de ubicación de la parroquia Quimiag.

Coordenadas: 1°40'37"S 78°39'39"W.

Fuente: Google.com/maps/search/parroquia+quimiag/,2018

El procesamiento de las mismas, se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo ubicada en el cantón Riobamba.

2.2 Factores de Investigación

2.2.1 Población de estudio

Una quesera artesanal de la Parroquia Quimiag en la Provincia de Chimborazo, donde sus procesos y condiciones internas pueden afectar de manera directa la calidad microbiológica de la salmuera y los quesos que pasan por ella dentro de sus instalaciones.

2.2.2 Muestra

Para la realización del análisis microbiológico, se recogieron muestras de: salmuera en la tina superior e inferior en el día de su preparación (día 0) y posteriormente a través del tiempo en los días 1, 3, 5, 7, 9, 11 y 12 (momento en el que se elimina); quesos antes y después del proceso de salado en los días 1, 3, 5, 7, 9 y 11 de la tina superior e inferior de salmuera; muestras de ambiente, de materia prima (agua y sal) y de superficies inertes en el día 0 y superficies vivas (manipuladores) en los días 1, 7 y 12.

2.2.3 Materiales, equipos y reactivos

2.2.3.1 Materiales

- Equipo de bioseguridad (mandil, cofia, guantes, mascarilla).
- Caja térmica de poliestireno (cooler).
- Empaques de gel.
- Matraces de 250 mL.
- Matraces de 500 mL.
- Vasos de precipitación de 500 mL.
- Tubos de ensayo de 20 mL.
- Gradilla para tubos de ensayo.
- Paquete de toallas de papel de reutilizables.
- Paquete de papel aluminio.
- Probetas de 100 mL.
- Pipetas de 10 mL.
- Pipetas de 1000 µL.
- Espátulas.

- Paquetes de fundas de basura.
- Paquete de bolsas herméticas.
- Paquete de puntas para pipetas de 1000 µL.
- Lámpara de alcohol.
- Encendedor.

2.2.3.2 *Equipos*

- Autoclave.
- Cámara de flujo laminar.
- Incubadora.
- Refrigeradora.
- Balanza analítica.
- Reverbero.

2.2.3.3 *Reactivos*

- Agua destilada
- Alcohol potable 96%.
- Alcohol potable 70%.
- Agua de peptona.

2.2.3.4 *Medios de cultivo y Placas Petrifilm*

Medios de cultivo

- Agar PCA (Plate Count Agar).
- Agar Saboraud.

Placas Petrifilm 3M para:

- Recuento de *Staphylococcus aureus*.
- Recuento de *Escherichia coli* y Coliformes.
- Recuento de Enterobacterias.
- Recuento de Mohos y levaduras.
- Recuento de Aerobios AC (Aerobic Count).
- Detección cualitativa de *Salmonella*.

2.3 Técnicas y Métodos

2.3.1 Levantamiento de la línea base

El siguiente estudio fue socializado por Seguridad Alimentaria, Grupo de Investigación y Desarrollo (SAGID) en la quesera artesanal de la Parroquia Quimiag; la misma que con su colaboración permitió la visita para conocer los procesos que se llevan a cabo de manera habitual y determinar las zonas que se procederían a evaluar como puntos críticos de control y qué muestras de materia prima deben recolectarse para el análisis microbiológico una vez realizado el flujograma de proceso.

2.3.2 Toma y transporte de muestras

Para la toma y transporte de muestras, se lo realizó en base a la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-2:1999 Control microbiológico de los alimentos. Toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico; la misma detalla cómo tomar y preparar diferentes muestras de naturaleza sólida o líquida para su análisis en el laboratorio.

El detalle del número de muestreos de manera general se lo puede observar en las Tablas 1-2 y 2-2.

Tabla 1-2: Muestreos en la quesera artesanal.

| PARÁMETRO | NÚMERO O TAMAÑO DE MUESTRA | DESCRIPCIÓN |
|-----------|----------------------------|-------------|
| | | |

| | | |
|--|--|---|
| LUGAR DE MUESTREO | 1 | Quesera artesanal ubicada en la parroquia rural de Quimiag-Chimborazo. |
| TIPOS DE MUESTRAS | 5 | Muestras de salmuera. Muestras de quesos. Muestras de ingredientes (sal, agua). Muestras de superficies inertes (tina de salmuera, cernidera, manguera, lona de sal, mesón de quesos). Muestras de superficies vivas (manos de manipuladores) |
| MUESTRAS DE QUESOS | 64 quesos (de 250 g) | Dos unidades de quesos por cada tina de salmuera a evaluar (superior e inferior), de cada uno de los 6 lotes elaborados en el día 1, 3, 5, 7, 9, y 11 de evaluación de la salmuera (antes y después de su inmersión en ella). |
| MUESTRAS DE SALMUERA | 8 veces (2 tinas) 90 mL | Cantidad suficiente para realizar los ensayos correspondientes tomados por duplicado en cada día de evaluación (0, 1, 3, 5, 7, 9, 11 y 12). |
| MUESTRAS DE INGREDIENTES | Agua 250 mL Sal 100 g | Cantidad suficiente para realizar los ensayos correspondientes tomados en el día de elaboración de la salmuera (día cero). |
| MUESTRAS DE SUPERFICIES INERTES | 8 Hisopado de 10 x 10 cm ² | Superficies inertes: Toma de muestra de las tinas de la salmuera (superior e inferior). Lonas de sal para tinas de salmuera (superior e inferior). Mesón de quesos. Cernidera. Manguera. |
| MUESTRAS DE SUPERFICIES VIVAS | 3 90 mL | Toma de muestra de manos de manipuladores en la etapa de salación en los días 1, 7 y 11. |
| MUESTRAS DE AMBIENTE | 5 | Toma de la muestra del ambiente de 5 puntos del lugar donde se encuentra localizada las tinas de salmuera, la toma de la muestra se realiza el día de la elaboración de la salmuera (día cero) para aerobios mesófilos y mohos y levaduras. |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Tabla 2-2: Muestreos en la quesera artesanal.

| MUESTRA | TIEMPO (días) | TOTALIDAD |
|---------------------|----------------------|------------------|
| Superficies inertes | 0 | 1 |
| Superficies vivas | 1, 7 y 12 | 3 |
| Ambiente | 0 | 1 |
| Sal nueva | 0 | 1 |

| | | |
|---|---------------------------|---|
| Sal usada | 0 | 1 |
| Agua para preparación de salmuera | 0 | 1 |
| Salmuera en tina superior | 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11 y 12 | 8 |
| Salmuera en tina inferior | 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11 y 12 | 8 |
| Quesos antes de salado en tina superior de salmuera | 1, 3, 5, 7, 9 y 11. | 6 |
| Quesos después de salado en tina superior de salmuera | 1, 3, 5, 7, 9 y 11. | 6 |
| Quesos antes de salado en tina inferior de salmuera | 1, 3, 5, 7, 9 y 11. | 6 |
| Quesos después de salado en tina inferior de salmuera | 1, 3, 5, 7, 9 y 11. | 6 |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

En cuanto a los muestreos realizados en superficies inertes, superficies vivas, ambiente, materia prima (sal nueva y sal usada; agua pasteurizada y agua en reposo), salmuera (tina superior y tina inferior) y producto en proceso (queso); se observan desde la Tabla 3-2 hasta la Tabla 14-2.

Tabla 3-2: Medición de ATP de superficies inertes.

| SUPERFICIES INERTES | | | | |
|---|----------------------------|---|-----------|---|
| LUGAR | | CANTIDAD | INDICADOR | EQUIPO |
| Tina de salmuera superior | Esquina superior derecha | 1 muestreo Hisopado de 10 x 10 cm ² | RLU | Luminómetro Higiene <i>EnSURE™ Monitoring System</i> |
| | Esquina superior izquierda | | | |
| | Esquina inferior derecha | | | |
| | Esquina inferior izquierda | | | |
| | Centro | | | |
| Tina de salmuera inferior | Esquina superior derecha | | | |
| | Esquina superior izquierda | | | |
| | Esquina inferior derecha | | | |
| | Esquina inferior izquierda | | | |
| | Centro | | | |
| Lonas de sal para salmuera en tina superior | Lona 1 | | | |
| | Lona 2 | | | |
| | Lona 3 | | | |
| Lonas de sal para | Lona 1 | | | |

| | | | | |
|---------------------------|----------------------------|--|--|--|
| salmuera en tina inferior | Lona 2 | | | |
| | Lona 3 | | | |
| Bidón de agua | Base | | | |
| | Pared interna | | | |
| | Pared externa | | | |
| Mesón de quesos | Esquina superior derecha | | | |
| | Esquina superior izquierda | | | |
| | Esquina inferior derecha | | | |
| | Esquina inferior izquierda | | | |
| | Centro | | | |
| Cernidera | Base | | | |
| Manguera | Boca | | | |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Tabla 4-2: Análisis microbiológico de superficies vivas.

| SUPERFICIES VIVAS | | | | |
|-------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|---|------------------------|
| MUESTRA | VOLUMEN | MICROORGANISMO INDICADOR | PLACA PETRIFILM | NORMATIVA |
| Manipuladores (3) | 90 mL del enjuague para cada uno. | <i>Staphylococcus aureus</i> | Placas Petrifilm™ Staph Express para Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> | NTE INEN 1529 – 5:2006 |
| | | Aerobios mesófilos | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios AC | NTE INEN 1529 – 5:2006 |
| | | Enterobacterias | Placas Petrifilm™ para Recuento de Enterobacterias | NTE INEN 1529 – 5:2006 |
| | | Mohos y levaduras | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Mohos y Levaduras | NTE INEN 1529 – 5:2006 |
| | | <i>Escherichia coli</i> y coliformes | Placas Petrifilm™ para el Recuento de <i>E. coli</i> /Coliformes | NTE INEN 1529 – 5:2006 |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Tabla 5-2: Análisis microbiológico de ambiente.

| AMBIENTE | | | | |
|------------------------------------|------------|--------------------------|------------------|------------------------|
| MUESTRA | CANTIDAD | MICROORGANISMO INDICADOR | MEDIO DE CULTIVO | NORMATIVA |
| Esquinas de las tinas de salmuera. | 1 muestreo | Mohos y levaduras | Agar Saboraud | NTE INEN 1529 – 5:2006 |
| | | Aerobios mesófilos | Agar PCA | NTE INEN 1529 – 5:2006 |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Tabla 6-2: Análisis microbiológico de sal nueva.

| SAL NUEVA | | | | |
|-----------|----------|--------------------------------------|---|--------------------|
| MUESTRA | CANTIDAD | MICROORGANISMO INDICADOR | PLACA PETRIFILM | NORMATIVA |
| Sal nueva | 10 g. | <i>Staphylococcus aureus</i> | Placas Petrifilm™ Staph Express para Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> | NTE INEN 0057:2010 |
| | | Aerobios mesófilos | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios AC | NTE INEN 0057:2010 |
| | | Enterobacterias | Placas Petrifilm™ para Recuento de Enterobacterias | NTE INEN 0057:2010 |
| | | Mohos y levaduras | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Mohos y Levaduras | NTE INEN 0057:2010 |
| | | <i>Escherichia coli</i> y coliformes | Placas Petrifilm™ para el Recuento de <i>E. coli</i> /Coliformes | NTE INEN 0057:2010 |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Tabla 7-2: Análisis microbiológico de sal usada

| SAL USADA | | | | |
|-----------|----------|------------------------------|--|--------------------|
| MUESTRA | CANTIDAD | MICROORGANISMO INDICADOR | PLACA PETRIFILM | NORMATIVA |
| Sal usada | 10 g. | <i>Staphylococcus aureus</i> | Placas Petrifilm™ Staph Express para Recuento de | NTE INEN 0057:2010 |

| | | | | |
|--|--|--------------------------------------|--|--------------------|
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | |
| | | Aerobios mesófilos | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios AC | NTE INEN 0057:2010 |
| | | Enterobacterias | Placas Petrifilm™ para Recuento de Enterobacterias | NTE INEN 0057:2010 |
| | | Mohos y levaduras | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Mohos y Levaduras | NTE INEN 0057:2010 |
| | | <i>Escherichia coli</i> y coliformes | Placas Petrifilm™ para el Recuento de <i>E. coli</i> /Coliformes | NTE INEN 0057:2010 |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Tabla 8-2: Análisis microbiológico de agua para preparación de salmuera.

| AGUA | | | | |
|---------|---------|--------------------------------------|---|---------------------------------------|
| MUESTRA | VOLUMEN | MICROORGANISMO INDICADOR | PLACA PETRIFILM | NORMATIVA |
| Agua | 90 mL. | <i>Staphylococcus aureus</i> | Placas Petrifilm™ Staph Express para Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> | AOAC 2003.07 NTE INEN 1529 – 14:98 |
| | | Aerobios mesófilos | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios AC | AOAC 990.12 NTE INEN 1529 – 5:2006 |
| | | Enterobacterias | Placas Petrifilm™ para Recuento de Enterobacterias | AOAC 2003.1 |
| | | Mohos y levaduras | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Mohos y Levaduras | AOAC 997.02 |
| | | <i>Escherichia coli</i> y coliformes | Placas Petrifilm™ para el Recuento de <i>E. coli</i> /Coliformes | NTE INEN 1108:2011 |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Tabla 9-2: Análisis microbiológico de salmuera en la tina superior.

| SALMUERA (TINA SUPERIOR) | | | | |
|-------------------------------|---------|--------------------------------------|---|---------------------------------------|
| MUESTRA | VOLUMEN | MICROORGANISMO INDICADOR | PLACA PETRIFILM | NORMATIVA |
| Salmuera de la tina superior. | 90 mL | <i>Staphylococcus aureus</i> | Placas Petrifilm™ Staph Express para Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> | AOAC 2003.07 NTE INEN 1529 – 14:98 |
| | | Aerobios mesófilos | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios AC | AOAC 990.12 NTE INEN 1529 – 5:2006 |
| | | Enterobacterias | Placas Petrifilm™ para Recuento de Enterobacterias | AOAC 2003.1 |
| | | Mohos y levaduras | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Mohos y Levaduras | AOAC 997.02 |
| | | <i>Escherichia coli</i> y coliformes | Placas Petrifilm™ para el Recuento de <i>E. coli</i> /Coliformes | AOAC 991.14 |

Elaborado por: Andrea Aguilera 2018.

Tabla 10-2: Análisis microbiológico de salmuera en la tina inferior.

| SALMUERA (TINA INFERIOR) | | | | |
|-------------------------------|---------|------------------------------|---|---------------------------------------|
| MUESTRA | VOLUMEN | MICROORGANISMO INDICADOR | PLACA PETRIFILM | NORMATIVA |
| Salmuera de la tina inferior. | 90 mL | <i>Staphylococcus aureus</i> | Placas Petrifilm™ Staph Express para Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> | AOAC 2003.07 NTE INEN 1529 – 14:98 |
| | | Aerobios mesófilos | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios AC | AOAC 990.12 NTE INEN 1529 – 5:2006 |
| | | Enterobacterias | Placas Petrifilm™ para Recuento de Enterobacterias | AOAC 2003.1 |

| | | | | |
|--|--|--------------------------------------|--|-------------|
| | | Mohos y levaduras | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Mohos y Levaduras | AOAC 997.02 |
| | | <i>Escherichia coli</i> y coliformes | Placas Petrifilm™ para el Recuento de <i>E. coli</i> /Coliformes | AOAC 991.14 |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Tabla 11-2: Análisis microbiológico de quesos antes del proceso de salado en tina superior de salmuera.

| QUESOS ANTES DE SALADO (TINA SUPERIOR) | | | | |
|--|---------------------------------|--------------------------------------|---|--------------------------|
| MUESTRA | CANTIDAD | MICROORGANISMO INDICADOR | PLACA PETRIFILM | NORMATIVA |
| Quesos antes de salado. | 2 quesos. (10 g de cada uno) | <i>Staphylococcus aureus</i> | Placas Petrifilm™ Staph Express para Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> | NTE INEN 1529 – 14:98 |
| | | Aerobios mesófilos | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios AC | AOAC 986.33 |
| | | Enterobacterias | Placas Petrifilm™ para Recuento de Enterobacterias | NTE INEN 1529 - 13:98 |
| | | Mohos y levaduras | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Mohos y Levaduras | AOAC 997.02 |
| | | <i>Escherichia coli</i> y coliformes | Placas Petrifilm™ para el Recuento de <i>E. coli</i> /Coliformes | AOAC 991.14 |
| | | <i>Salmonella</i> | Placas Petrifilm™ <i>Salmonella</i> Express | NTE INEN 1529 – 15: 2009 |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Tabla 12-2: Análisis microbiológico de quesos antes del proceso de salado en tina inferior de salmuera.

| QUESOS ANTES DE SALADO (TINA INFERIOR) |
|--|
|--|

| MUESTRA | CANTIDAD | MICROORGANISMO INDICADOR | PLACA PETRIFILM | NORMATIVA |
|-------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|---|--------------------------|
| Quesos antes de salado. | 2 quesos. (10 g de cada uno) | <i>Staphylococcus aureus</i> | Placas Petrifilm™ Staph Express para Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> | NTE INEN 1529 – 14:98 |
| | | Aerobios mesófilos | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios AC | AOAC 986.33 |
| | | Enterobacterias | Placas Petrifilm™ para Recuento de Enterobacterias | NTE INEN 1529 - 13:98 |
| | | Mohos y levaduras | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Mohos y Levaduras | AOAC 997.02 |
| | | <i>Escherichia coli</i> y coliformes | Placas Petrifilm™ para el Recuento de <i>E. coli</i> /Coliformes | AOAC 991.14 |
| | | <i>Salmonella</i> | Placas Petrifilm™ <i>Salmonella</i> Express | NTE INEN 1529 – 15: 2009 |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Tabla 13-2: Análisis microbiológico de quesos después del proceso de salado en tina superior de salmuera.

| QUESOS DESPUES DE SALADO (TINA SUPERIOR) | | | | |
|--|---------------------------------|------------------------------|---|-----------------------|
| MUESTRA | CANTIDAD | MICROORGANISMO INDICADOR | PLACA PETRIFILM | NORMATIVA |
| Quesos después de salado. | 2 quesos. (10 g de cada uno) | <i>Staphylococcus aureus</i> | Placas Petrifilm™ Staph Express para Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> | NTE INEN 1529 – 14:98 |
| | | Aerobios mesófilos | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios AC | AOAC 986.33 |
| | | Enterobacterias | Placas Petrifilm™ para Recuento de | NTE INEN 1529 - 13:98 |

| | | | | |
|--|--|--------------------------------------|--|--------------------------|
| | | | Enterobacterias | |
| | | Mohos y levaduras | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Mohos y Levaduras | AOAC 997.02 |
| | | <i>Escherichia coli</i> y coliformes | Placas Petrifilm™ para el Recuento de <i>E. coli</i> /Coliformes | AOAC 991.14 |
| | | <i>Salmonella</i> | Placas Petrifilm™ <i>Salmonella</i> Express | NTE INEN 1529 – 15: 2009 |

Elaborado por: Andrea Aguilera 2018.

Tabla 14-2: Análisis microbiológico de quesos después del proceso de salado en tina inferior de salmuera.

| QUESOS DESPUES DE SALADO (TINA INFERIOR) | | | | |
|--|------------------------------|--------------------------------------|---|--------------------------|
| MUESTRA | CANTIDAD | MICROORGANISMO INDICADOR | PLACA PETRIFILM | NORMATIVA |
| Quesos después de salado. | 2 quesos. (10 g de cada uno) | <i>Staphylococcus aureus</i> | Placas Petrifilm™ Staph Express para Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> | NTE INEN 1529 – 14:98 |
| | | Aerobios mesófilos | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios AC | AOAC 986.33 |
| | | Enterobacterias | Placas Petrifilm™ para Recuento de Enterobacterias | NTE INEN 1529 - 13:98 |
| | | Mohos y levaduras | Placas Petrifilm™ para el Recuento de Mohos y Levaduras | AOAC 997.02 |
| | | <i>Escherichia coli</i> y coliformes | Placas Petrifilm™ para el Recuento de <i>E. coli</i> /Coliformes | AOAC 991.14 |
| | | <i>Salmonella</i> | Placas Petrifilm™ <i>Salmonella</i> | NTE INEN 1529 – 15: 2009 |

| | | | | |
|--|--|--|---------|--|
| | | | Express | |
|--|--|--|---------|--|

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

2.4 Muestreo

En la quesera artesanal de la Parroquia Quimiag, se realizaron muestreos 8 días diferentes, partiendo de la base de que el día 0, correspondía al día de la preparación de salmuera.

2.4.1 *Muestreo de superficies inertes*

Se hizo un hisopado en una superficie de 10 x 10 cm² en cada superficie detectada como punto crítico de control como fueron: tinas de salmuera, lonas de sal, bidón de agua, mesón de quesos, cernidera y manguera.

Cada vez que se finalizó un hisopado, se procedió a romper su bolo superior para que pueda humedecerlo el diluyente, posterior a ello se realizó la lectura en el Luminómetro.

2.4.2 *Muestreo de superficies vivas*

Las superficies vivas que se consideraron para muestreo, fueron las manos de los manipuladores que tenían contacto directo con los utensilios, agua, salmuera y quesos.

Se lo realizó mediante el método del enjuague, el mismo que detalla que en una bolsa hermética se transfieren 100 mL de solución de dilución estéril (agua de peptona) de su frasco esterilizado, posteriormente el manipulador se hace un lavado con ambas manos dentro de la bolsa por un minuto haciendo especial hincapié en frotarse los espacios entre los dedos, uñas y palmas.

Una vez finalizado el enjuague, se trasvasa el contenido nuevamente al frasco estéril.

2.4.3 *Muestreo de ambiente*

Mediante la utilización de estructuras de madera de 1,50 m de alto, se colocaron 4 placas de agar PCA previamente preparadas en las 4 esquinas de las tinas de salmuera; se esperó por un lapso de

12 minutos, se taparon y se colocaron en un cooler con gel refrigerante. La placa restante se colocó en la puerta de entrada, cercana a las tinas.

Se siguió el mismo procedimiento para placas con agar Saboraud para muestrear ambiente.

2.4.4 *Muestreo de materia prima*

2.4.4.1 *Sal nueva*

Usando una espátula, se retiró la capa superior que tiene contacto con la lona y se procedió a sacar 40 g de cada saco, obteniendo un total de 120 g.

2.4.4.2 *Sal usada*

Se procedió a retirar la capa externa de sal húmeda que tenía contacto directo con el ambiente y se tomaron 150 g de muestra aproximadamente.

2.4.4.3 *Agua*

Con ayuda de un cucharón estéril, se homogeneizó el agua que se encontraba en reposo en un bidón; posterior a ello, se tomó un frasco de 200 mL previamente esterilizado y codificado y se llenó hasta obtener el volumen de 150 mL.

2.4.4.4 *Salmuera*

Una vez homogeneizado el líquido del tanque con un cucharón estéril, se procedió a tomar un volumen de 150 mL y se lo transfirió a un frasco esterilizado codificado.

2.4.4.5 *Queso*

De manera aleatoria se tomaron 2 quesos antes y después del proceso de salado por cada tina de salmuera superior e inferior y se colocaron en bolsas herméticas cada uno de ellos; una vez sellados se los depositó en un cooler que contenía gel frío para evitar y ralentizar cualquier proceso de proliferación microbiana que pudiera alterar la muestra hasta llegar al lugar de análisis.

2.5 Preparación de diluyentes y medios

2.5.1 *Agua de Peptona Bufferada*

- Pesar y diluir 1 g de agua de peptona en 1 L de agua destilada.
- Homogeneizar.
- Colocar la solución preparada codificada en el autoclave durante 15 minutos a 121 °C y 15 PSI.
- Una vez haya alcanzado temperatura ambiente, proceder con las diluciones seriadas.

2.5.2 *Agar PCA (Plate Count Agar)*

- Determinar el número de placas que deberán ser preparadas para el estudio microbiológico según lo que se desee analizar.
- Realizar el cálculo de la cantidad de agar que debe ser pesado para el número de cajas deseadas.
- Disolver 2,35 g de agar PCA en un matraz de Erlenmeyer con 100 mL de agua destilada.
- Autoclavar durante un lapso de 15 minutos, 15 PSI a 121 °C.
- Transportar el medio preparado a la cámara de flujo laminar encendida.
- Una vez pueda tomarse el matraz con la mano, colocar en cada caja Petri un volumen de 15 mL en cada una.
- Esperar a que solidifiquen.
- Colocar la tapa de cada una.
- Codificar.
- Almacenar en refrigeración, boca abajo.

2.5.3 *Agar Saboraud*

- Establecer el número de placas necesarias para la investigación.
- Calcular cuántos gramos deben ser pesados del medio de cultivo.
- Disolver 6,2 g de agar Sabouraud en 100 mL de agua destilada y mezclar hasta obtener una solución uniforme.
- Autoclavar durante un lapso de 15 minutos, 15 PSI a 121 °C.
- Transferir un volumen de 15 mL del medio a cada caja Petri, una vez éste pueda tomarse con las manos sin riesgo a quemarse.
- Esperar a que se solidifique.
- Colocar las tapas.
- Codificar y almacenar en refrigeración.

2.6 Placas Petrifilm™ 3M

Las Placas Petrifilm™ para el recuento de: Aerobios Mesófilos (AC); Mohos y levaduras; *E. coli*/coliformes; Enterobacterias y *Staphylococcus aureus* no requieren preparación previa, excepto para determinación de *Salmonella*.

2.6.1 Placas Petrifilm™ para detección cualitativa de Salmonella

2.6.1.1 Preparación de base de enriquecimiento

- Disolver 37 g del suplemento en 1 L de agua destilada caliente y homogeneizar.
- Verificar que el pH se encuentra entre 6,8 – 7,2.
- Autoclavar a 15 PSI por 15 minutos a 121 °C.
- Esperar a que alcance temperatura ambiente.

2.6.1.2 Preparación de polvo de enriquecimiento

- Pesar 50 mg del polvo de enriquecimiento de la base.
- Agregar el polvo después de haber sido calentado hasta llegar a una temperatura alrededor de 30°C.
- Agitar hasta su homogeneización.

- Dejar reposar para que alcance una temperatura ambiente estable.

2.7 Análisis Microbiológico

Para el análisis microbiológico de ambiente se utilizaron medios de cultivo PCA y Saboraud según lo establece la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529 – 5:2006.

En el caso de la evaluación microbiológica de las muestras de superficies vivas y materia prima se utilizaron Placas Petrifilm™ las mismas que se encuentran reconocidas por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC) como se detalla en la Tabla 15-2:

Tabla 15-2: Validaciones AOAC para Placas Petrifilm™.

| PLACA PETRIFILM™ | AOAC |
|---|--|
| Placas Petrifilm™ Staph Express para Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> | AOAC 2003.07 AOAC 2003.08 |
| Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios AC | AOAC 986.33 AOAC 990.12 |
| Placas Petrifilm™ para Recuento de Enterobacterias | AOAC 2003.01 |
| Placas Petrifilm™ para el Recuento de Mohos y Levaduras | AOAC 997.02 |
| Placas Petrifilm™ para el Recuento de <i>E. coli</i> /Coliformes | AOAC 991.14 AOAC 986.33 y AOAC 989.10 |
| Placas Petrifilm™ <i>Salmonella</i> Express | AOAC (PTM) #061301 |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Los 8 días de muestreo se acudió con equipo de bioseguridad, un cooler con gel refrigerante, termómetro, bolsas herméticas, diluyente esterilizado.

Una vez que las muestras se encontraban en el laboratorio de análisis, se procedió a hacer las diluciones según lo planificado, una vez obtenidas se aplicó la siguiente fórmula para obtener el número de UFC/g o UFC/mL en el caso de muestras de naturaleza sólida y líquida y UFC/mano para superficies vivas (manos) (Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica, 2014, p.21) .

$$N = \frac{\sum C}{V \times 1,1 \times d}$$

Donde:

ΣC : sumatoria de las colonias de dos placas que sobrepasan las 10 como mínimo.

V: volumen utilizado para la siembra en mL.

d: primera dilución realizada; si no se hicieron diluciones, equivale a 1.

Para el cálculo de UFC/ m^3 de aire en el caso de las placas de PCA para aerobios mesófilos, se hace mediante la ecuación de Omeliansky (Borrego y Rodríguez, 2013, p.51):

$$n^{\circ}UFC/m^3 = 5a * 10^4(bt)^{-1}$$

Donde:

N: número de microorganismos en UFC.m³

a: número de colonias en la placa.

b: área de la placa en cm².

t: tiempo en minutos.

En el caso de UFC/ m^3 de aire en agar Saboraud para hongos, se lo realizó mediante la siguiente ecuación (Universidad de Salamanca, 2012, p.6):

$$n^{\circ} \frac{UFC}{m^3} = \frac{NC * 1000}{30 * NU}$$

Donde:

NC: número de colonias por placa

NU: número de unidades de tiempo empleadas para el muestreo

El resultado se redondea a dos cifras significativas.

2.7.1 Preparación de diluciones seriadas

2.7.1.1 Diluciones de sal

- Se pesó 10 g de sal en la balanza analítica.

- Una vez se tuvo la cantidad deseada, se transfirió a un matraz Erlenmeyer con 90 mL de agua de peptona previamente esterilizada.
- Se homogeneizó por un lapso de 5 segundos y se dejó en reposo; teniendo como resultado la dilución madre (10^{-1}).
- Para obtener la segunda dilución, se tomó con 1 mL de la dilución 10^{-1} con una pipeta de 1000 μ L y se transfirió a un tubo de ensayo con 9 mL de agua de peptona 0,1% estéril y se homogeneizó.
- Se siguió el mismo proceso, hasta obtener las diluciones requeridas en cada caso:

Sal nueva: 10^{-1} y 10^{-2} .

Sal usada: 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} .

2.7.1.2 *Diluciones de agua, salmuera y enjuague de manipuladores (superficies vivas)*

- Para la primera dilución 10^{-1} , se tomó 10 mL de cada muestra previamente homogeneizada con una pipeta.
- Se colocó en un matraz con 90 mL de agua de peptona estéril y se mezcló.
- Inmediatamente se tomó 1 mL de la primera dilución utilizando una pipeta y se añadió a un tubo con 9 mL de agua de peptona, se agitó y así se obtuvo la segunda dilución 10^{-2} .
- Se siguió el mismo proceso, hasta obtener las diluciones requeridas en cada caso:

Agua: 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} .

Salmuera: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} y 10^{-10} .

Enjuague de manipuladores (superficies vivas): 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} .

En el caso de la dilución madre de salmuera y de sal tanto nueva como usada, se realizó el cálculo respectivo para añadir 15% de sal, para mantener el balance osmótico.

2.7.1.3 *Diluciones de quesos antes y después del proceso de salado*

Este procedimiento se lo realizó a cada queso para el análisis es decir, 8 quesos diarios (2 antes del proceso de salado de la tina superior e inferior de salmuera y 2 quesos después del proceso de salado de la tina superior e inferior de salmuera) cada día de muestreo.

- Mediante la utilización de una espátula estéril, se dividió al queso en 4 partes.
- De cada parte, se sacó del centro una porción y se colocó en una bolsa hermética hasta llegar a un peso de 10 g en total.
- Se ablandó y se colocó en un matraz Erlenmeyer con 90 mL de agua de peptona esterilizada y se homogeneizó.
- Se procedió a realizar las diluciones de la manera previamente descrita, hasta llegar a la dilución 10^{-10} .

2.7.2 Siembra

Para la siembras de cada muestra se realizó en la cámara de flujo laminar; donde previamente se realizó una limpieza con alcohol 70% en todas las superficies y paredes y posterior a ello, se encendió por un lapso de 8 minutos la luz ultravioleta (UV).

2.7.2.1 Técnica de siembra

Muestras de ambiente

- Se colocaron estructuras de madera de 1,50 m de alto en los vértices de las tinas, y se abrieron por un lapso de 12 minutos.
- Pasado ese tiempo, se taparon y codificaron de acuerdo a su ubicación.
- Se almacenaron en un cooler con gel refrigerante hasta su llegada al laboratorio.
- Se incubaron a 34 °C por un lapso de 48 horas para las placas de PCA y un máximo de 7 días para placas de Saboraud.
- Se realizó el conteo y se obtuvieron los resultados.

2.7.2.2 Superficies vivas

Para las Placas Petrifilm™ para el recuento de: Aerobios Mesófilos (AC); Enterobacterias, Mohos y levaduras, *E. coli*/coliformes y *Staphylococcus aureus* se siguió el proceso detallado a continuación:

- De las diluciones deseadas para hacer el análisis microbiológico, se tomó un volumen de 1 mL con una pipeta automática de 1000 µL.
- Se alzó la capa protectora de la placa previamente codificada y se colocó en el centro la muestra, asegurando de que no hayan quedado burbujas de aire.
- Se procedió a colocar el esparcidor y a presionarlo suavemente para que la muestra pudiera llegar a los límites establecidos en la placa.
- Pasado un minuto hasta la solidificación del gel, se colocaron en la estufa apiladas en un número no mayor a 20; el tiempo de incubación de cada uno puede observarse en la Tabla 16-2.

Tabla 16-2: Temperatura y tiempo de incubación de los microorganismos analizados.

| MICROORGANISMO ANALIZADO | | TEMPERATURA DE INCUBACIÓN | TIEMPO DE INCUBACIÓN |
|------------------------------|----------------|---------------------------|-----------------------|
| Aerobios Mesófilos | | 35 °C ± 1 °C | 48 h ± 3 h |
| Enterobacterias | | 37 °C ± 1 °C | 24 h ± 2 h |
| <i>Salmonella</i> | | 41,5 °C ± 1 °C | 8 h – 24 h |
| Mohos y levaduras | | 25 °C - 28 °C | 48 ± 2 h (60 h mohos) |
| <i>E. coli</i> / | <i>E. coli</i> | 35 °C ± 1 °C | 48 h ± 2 h |
| Coliformes | Coliformes | 35 °C ± 1 °C | 24 h ± 2 h |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | | 35 °C ± 1 °C | 24 h ± 2 h |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

2.8 Análisis Espectrofotométrico

Cada día de muestreo de salmuera desde el día de su preparación se midió en el espectrofotómetro para conocer la variación de absorbancia y transmitancia a través del tiempo hasta que es desechada.

- Una vez encendido, se configura la longitud de onda que es de 600 nm (Widdel, 2007, p.5).
- En las cubetas de cuarzo se añade agua destilada y en otra la muestra de salmuera.
- Se lleva a 0 el equipo para calibrarlo con el agua destilada.
- Se mide la muestra de salmuera.

2.9 Análisis de la Conductividad Eléctrica

Se midió la conductividad eléctrica de la salmuera, para conocer su la variación de la concentración de sal desde el día de su preparación.

- Se prendió el conductímetro y se lo encendió con alcohol 70%.
- Se transfirió la muestra de salmuera en un vaso de precipitación de 100 mL.
- Una vez la salmuera se encontraba en reposo, se insertaron los electrodos.
- Se leyeron los resultados.

2.10 Cálculo de TDS (Sólidos Totales Disueltos)

- Una vez obtenido el resultado en mS/cm de la muestra, convertirlo a $\mu\text{S/cm}$, para ello, multiplicar por 1000.
- Convertidos los valores a $\mu\text{S/cm}$, transformarlos a ppm (partes por millón), conociendo que $1 \text{ ppm} = 1,56 \mu\text{S/cm}$

2.11 Cálculo del rango de salinidad

- Tomando en cuenta lo mencionado anteriormente, los valores en $\mu\text{S/cm}$, multiplicar por 0,6 y 0,7 para conocer el rango menor y mayor respectivamente.
- Anotar los resultados.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Para establecer los rangos aceptados de los microorganismos analizados en las muestras de materia prima, producto en proceso, ambiente y superficies vivas; se tomaron como referencias: la Norma Técnica Ecuatoriana para aquellos que se encontraban especificados; y, para las muestras que carecían de especificación, se utilizó la obra de Sin-bin y Newman (2014, pp.1-46), “*Microbiological Guidelines for Food. For ready to-eat food in general and specific food items*”; a los parámetros establecidos por la Organización Mundial de la Salud, el Ministerio de Salud del Perú, del Grupo de Alimentos de la Sociedad Española de Microbiología, Asociación Americana de Salud Pública de los Estados Unidos, el Índice de la Contaminación Microbiana de Aire; los cuales también establecen rangos de carga microbiana permisible.

Cabe destacar que los procedimientos en la empresa no son estandarizados, en consecuencia todos los días se realizan las actividades de manera diferente, lo que podría afectar a la carga microbiana de cada muestra tomada.

3.1 Medición de ATP

3.1.1 Superficies inertes

Tabla 1-3: Resultado de la medición de ATP en superficies inertes, expresado en RLU (Unidades Relativas de Luz).

| LUGAR | HISOPADO | VALOR (RLU) | CRITERIO DE ACEPTACIÓN (Hygiena, 2014, pp.1-8) | | |
|---------------------------------|----------------------------------|----------------|---|-----------------------|--------------------------|
| | | | APRUEBA (menor a 10) | PRECAUCIÓN (11-15) | REPRUEBA (mayor a 16) |
| TINA DE SALMUERA SUPERIOR | Esquina superior derecha | 1838 | | | |
| | Esquina superior izquierda | 1750 | | | |
| | Esquina inferior | 1481 | | | |

| | | | | | |
|-----------------------------------|----------------------------|------|--|--|--|
| | derecha | | | | |
| | Esquina inferior izquierda | 1285 | | | |
| | Centro | 2075 | | | |
| TINA DE SALMUERA INFERIOR | Esquina superior derecha | 2877 | | | |
| | Esquina superior izquierda | 1000 | | | |
| | Esquina inferior derecha | 1551 | | | |
| | Esquina inferior izquierda | 471 | | | |
| | Centro | 967 | | | |
| LONAS DE SALMUERA SUPERIOR | Lona 1 | 147 | | | |
| | Lona 2 | 249 | | | |
| | Lona 3 | 35 | | | |
| LONA DE SALMUERA INFERIOR | Lona 1 | 25 | | | |
| | Lona 2 | 3 | | | |
| | Lona 3 | 60 | | | |
| BIDÓN DE AGUA | Base | 402 | | | |
| | Pared interna | 251 | | | |
| | Pared externa | 829 | | | |
| MESÓN DE QUESOS | Esquina superior derecha | 6859 | | | |
| | Esquina superior izquierda | 6522 | | | |
| | Esquina inferior derecha | 5498 | | | |
| | Esquina inferior izquierda | 5324 | | | |
| | Centro | 6314 | | | |
| CERNIDERA | Base para cernir | 8065 | | | |
| MANGUERA | Boca | 6249 | | | |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Tabla 2-3: Valores promedios de los resultados de ATP de las tinas de salmuera superior e

inferior expresado en RLU.

| LUGAR TINA | Esq. sup. der. | Esq. sup. izq. | Esq. inf. der. | Esq. inf. izq. | Centro | Promedio | CV (%) |
|-----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------|-----------------|---------------|
| Superior | 1838 | 1750 | 1481 | 1285 | 2075 | 1685.8 | 18.32 |
| Inferior | 2877 | 1000 | 1551 | 471 | 967 | 1373.2 | 67.25 |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

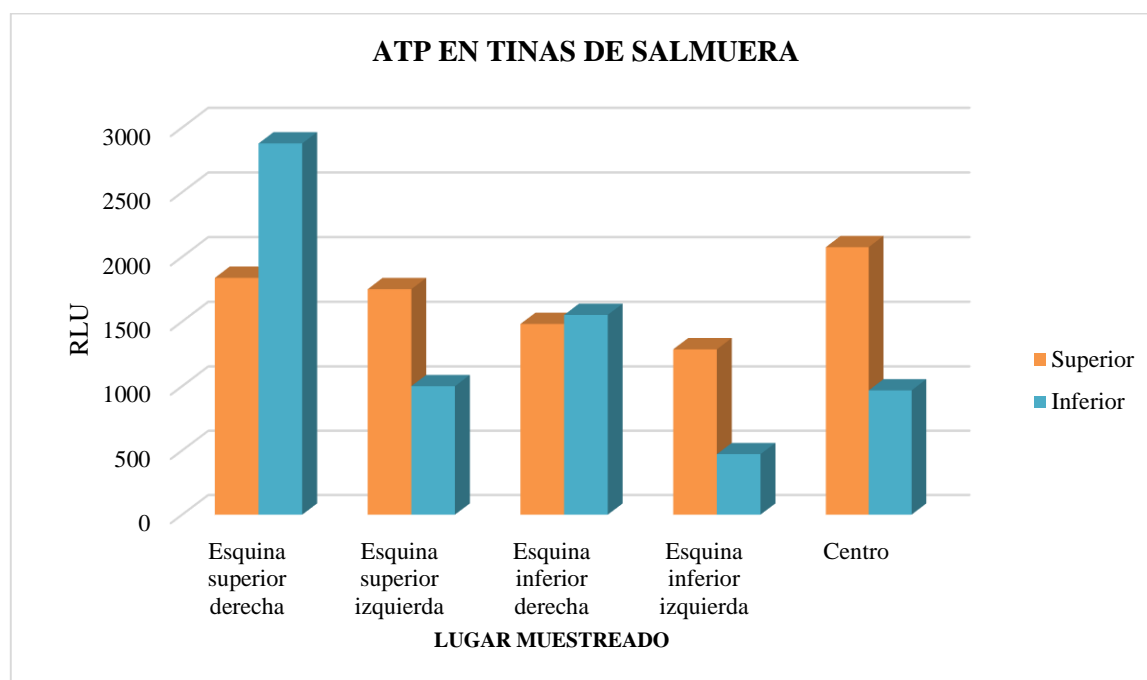


Gráfico 1-3: Valores promedios de los resultados de ATP expresado en RLU de las tinas de salmuera superior e inferior.

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Mediante el análisis de la Tabla 2-3 y el Gráfico 1-3, es posible establecer de manera general que la tina de salmuera superior manifiesta resultados más elevados de Adenosín Trifosfato (ATP) en comparación con la tina inferior, esto podría deberse a que se encuentra más expuesta al ambiente de la zona de producción y no se encuentra cubierta, siendo así que queda expuesta a la alta carga microbiana de aerobios mesófilos y mohos y levaduras hallados en el muestreo.

En el caso de la tina inferior, el resultado de RLU de su esquina superior derecha, fue más alto debido a que en sus cercanías, se halló un contenedor de desechos del proceso de producción cuya abertura se encontraba a su misma altura, considerándose un posible foco infeccioso; en el caso de hisopado de la tina superior, en su parte central presentó valores elevados; lo que se explicaría por el difícil de acceso a su zona central para efectuar la limpieza de manera adecuada, además

de la falta de adiestramiento del personal en materia de limpieza

Cabe destacar que la tina inferior presenta un coeficiente de variación de 67%, que es mucho mayor que la tina superior (18%), lo que da a entender que existe una mayor dispersión de los datos y consecuentemente una heterogeneidad de la limpieza en la tina inferior, porque al encontrarse a menor altura, el operario puede llevar a cabo sus actividades de higienización de la tina en ciertas zonas con mayor facilidad.

Tabla 3-3: Valores promedios de los resultados de ATP de las lonas de sal previo el vertido de su contenido en las tinas expresado en RLU.

| LUGAR | LONA 1 (RLU) | LONA 2 (RLU) | LONA 3 (RLU) | PROMEDIO (RLU) | CV (%) |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-----------|
| LONAS DE SAL VERTIDAS EN LA TINA SUPERIOR | 147 | 249 | 35 | 143.67 | 74.51 |
| LONAS DE SAL VERTIDAS EN LA TINA INFERIOR | 25 | 3 | 60 | 29.33 | 98.00 |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

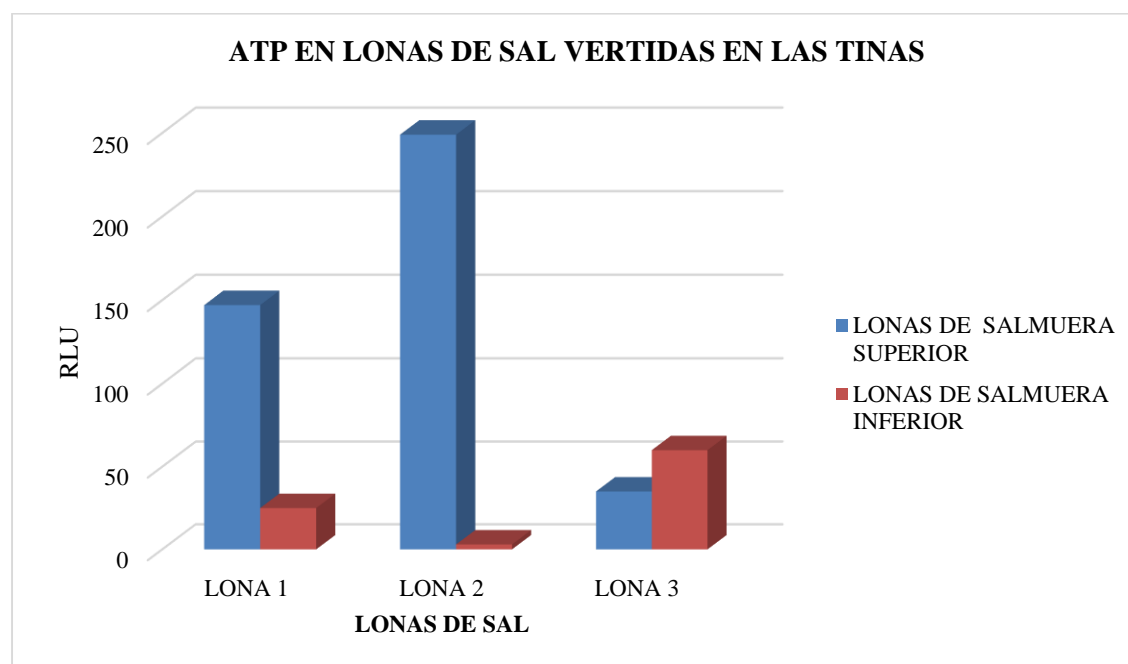


Gráfico 2-3: Valores promedios de los resultados de ATP expresado en RLU de las lonas de sal vertidas en las tinas.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Al visualizar el Gráfico 2-3 de los datos obtenidos de la Tabla 3-3, es posible denotar que todas las lonas, exceptuando la lona 2 de salmuera inferior no cumplen con el valor establecido que debe ser <10 RLU (Higiene, 2014, pp-1-8), ésto da entender que puede existir una mayor transferencia de contaminación en la tina superior puesto que las lonas que se utilizan para verter la sal, presentan valores elevados, ésto puede ocurrir por el hecho de encontrarse almacenadas en una habitación apartada del edificio de producción, que carece de limpieza y ventilación adecuadas.

Tabla 4-3: Valores promedio de los resultados de ATP expresado en RLU en el mesón utilizado para escurrimiento de quesos.

| LUGAR | Esq. sup. der. | Esq. sup. izq. | Esq. inf. der. | Esq. inf. izq. | Centro | PROMEDIO | CV (%) |
|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|--------|----------|--------|
| Mesón de quesos | 6859 | 6522 | 5498 | 5324 | 6314 | 6103.4 | 10.88 |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

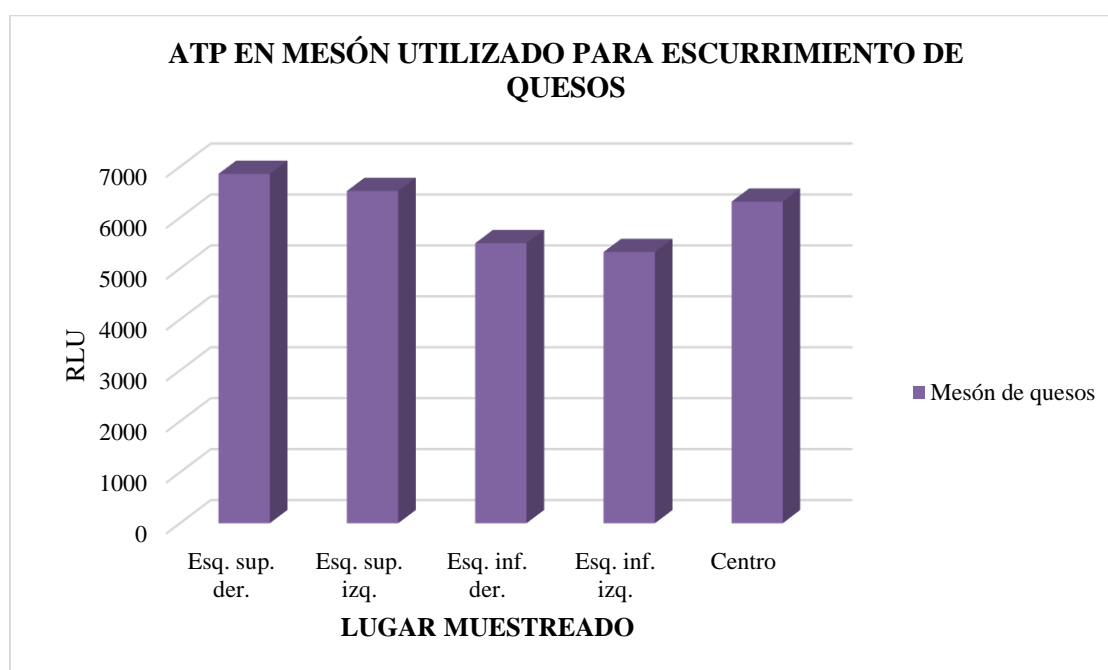


Gráfico 3-3: Resultados de ATP en mesón utilizado para escurrimiento de quesos expresado en RLU.

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Al observar la Tabla 4-3 y el Gráfico 3-3, los datos obtenidos de la medición de ATP del mesón de escurrimiento par los quesos permitieron conocer que es una superficie con alta carga

microbiana ya que sobrepasa el límite permisible de RLU, ésto podría deberse a que los operarios ponen sobre esa superficie utensilios sin lavar, restos de producto en proceso, bidones, moldes, entre otros objetos, que pueden ser sus contaminantes directos. Que es concordante con lo expuesto por Guerrero (2017, p.58), el cual establece que en la empresas lecheras, básicamente hay acumulación de carga microbiana y de sus sustancias de descomposición en los artefactos o equipos por falta de limpieza al trabajar directamente con fluido biológico; el problema de la presencia de ésta contaminación, radica en que puede generar una degradación del material por los productos de desecho que produce, haciendo que su eliminación no pueda ser efectuada apropiadamente y siga contaminando el lugar donde se ha producido y propagándose a otros

3.1.2 Superficies vivas

Tabla 5-3: Resultado de la medición de ATP en superficies vivas.

| LUGAR | HISOPADO | VALOR (RLU) | CRITERIOS DE ACEPTACIÓN (Hygiena, 2014, pp.1-8) | | |
|--|----------------------------|----------------|--|-----------------------|--------------------------|
| | | | APRUEBA (menor a 10) | PRECAUCIÓN (11-15) | REPRUEBA (mayor a 16) |
| Manos Manipulador (1) 20 años | Palma derecha | 3036 | | | |
| | Palma izquierda | 6247 | | | |
| | Entre dedos mano derecha | 3482 | | | |
| | Entre dedos mano izquierda | 4341 | | | |
| | Uñas de mano derecha | 2290 | | | |
| | Uñas de mano izquierda | 5054 | | | |
| Manos Manipulador (2) 48 años | Palma derecha | 4672 | | | |
| | Palma izquierda | 6653 | | | |
| | Entre dedos mano derecha | 7222 | | | |
| | Entre dedos mano izquierda | 6811 | | | |
| | Uñas de mano derecha | 7210 | | | |
| | Uñas de mano izquierda | 6338 | | | |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Tabla 6-3: Valores promedio de resultados de ATP en superficies vivas expresadas en RLU.

| MANIPULADOR | Palma der. | Palma izq. | Entre dedos mano der. | Entre dedos mano izq. | Uñas mano der. | Uñas mano izq. | PROMEDIO | CV (%) |
|-------------|------------|------------|-----------------------|-----------------------|----------------|----------------|----------|--------|
| 1 | 3036 | 6247 | 3482 | 4341 | 2290 | 5054 | 4075 | 35.33 |
| 2 | 4672 | 6653 | 7222 | 6811 | 7210 | 6338 | 6484.33 | 14.65 |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

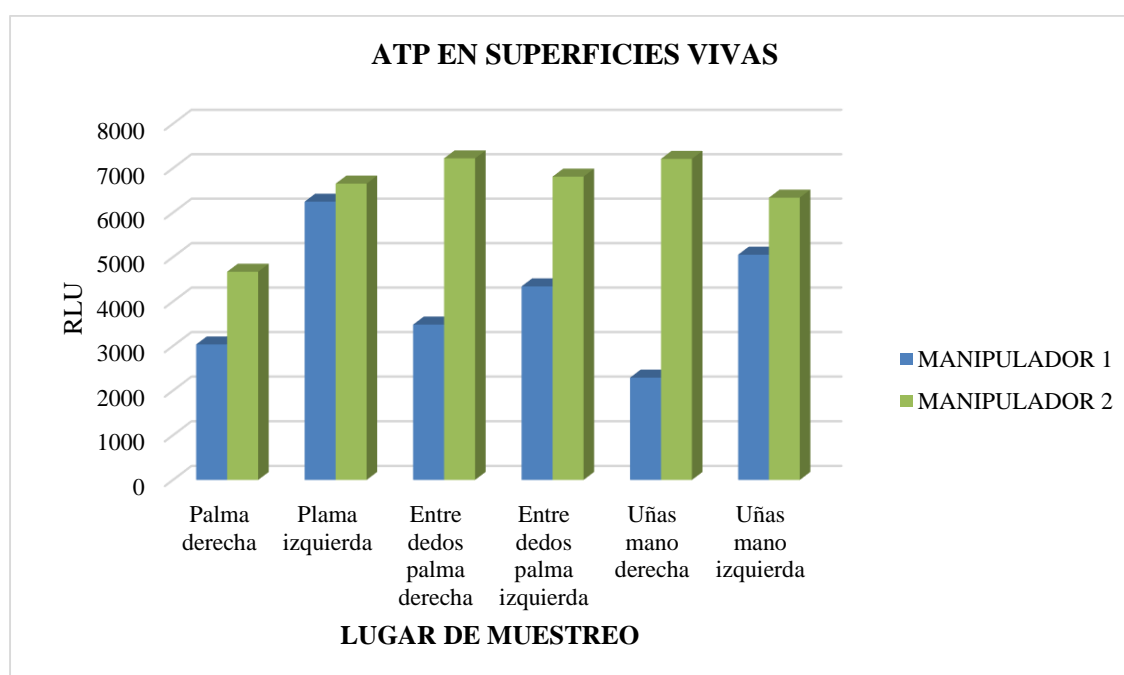


Gráfico 4-3: Valores promedio de resultados de ATP en superficies vivas expresadas en RLU.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

En la Tabla 6-3 se puede observar que el manipulador 2 tuvo mayor promedio de carga microbiana que el trabajador 1; ésto puede ser debido a que fue responsable de la preparación de salmuera y prensado de los quesos en el día de muestreo, siendo así que las diferentes actividades que se encontraba ejecutando pudieron provocar contaminación cruzada.

Si bien ambos operarios son diestros, los valores de RLU de su mano izquierda en cada caso, fueron mayores que los de su mano dominante, ya que ésta la usaban para tomar utensilios, telas, moldes, que se encontraban sumergidos en leche, agua o salmuera; de modo que éste “enjuague” alteraba su contenido de microorganismos tanto patógenos como alterantes, los cuales se adhieren a ellas gracias a la secreción de sustancias fijadoras, formando los “biofilms”, éstos se caracterizan

por su cubierta exterior de polisacáridos que les provee protección frente a las condiciones adversas del ambiente por lo que permite que pueda proliferar sin ningún tipo de intervención (Lasa et al. 2005, p.3-6).

Cabe destacar, que las superficies vivas en comparación con las inertes, presentan valores de RLU más altos debido a que la mayoría de su población microbiana se encuentra en fase estacionaria, que les permite tener mayor resistencia a agentes de limpieza, generándose de forma ralentizada más microorganismos con menos nutrientes (Guerrero, 2017, pp.54-55).

Ambos casos se ven sujetos a las prácticas ineficientes de limpieza en la quesera, al no existir instrumental de limpieza específico para cada zona, generando contaminación cruzada.

3.2 Análisis Microbiológico

3.2.1 Superficies vivas (manos de manipuladores)

3.2.1.1 *Staphylococcus aureus*

Tabla 7-3: Resultados de *Staphylococcus aureus* en muestras de manipuladores.

| MICROORGANISMO | <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/mano) | | | | | |
|----------------|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--------|-------------------|
| MUESTRA | DÍA DE MUESTREO | | | PROMEDIO | CV (%) | MAX MINSA* |
| | 1 | 7 | 11 | | | |
| Manipulador 1 | 6,2 x 10 ⁴ | 6,6 x 10 ⁴ | 9,0 x 10 ⁴ | 7,3 x 10 ⁴ | 20,8 | < 100 UFC/mano |
| Manipulador 2 | 4,0 x 10 ⁴ | 1,0 x 10 ⁵ | 1,1 x 10 ⁵ | 8,3 x 10 ⁴ | 45,4 | |
| Manipulador 3 | 1,7 x 10 ⁴ | 5,1 x 10 ⁴ | 3,1 x 10 ⁴ | 3,3 x 10 ⁴ | 51,8 | |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

*: Ministerio de Salud de Perú.

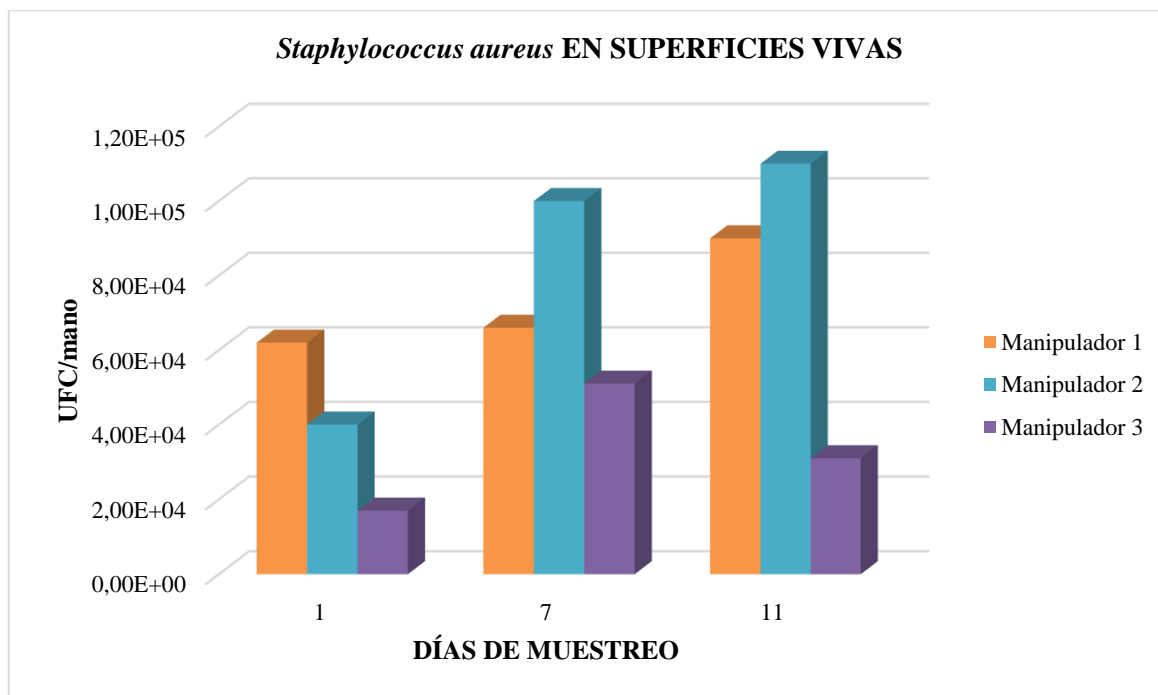


Gráfico 5-3: Valores promedio de resultados de *Staphylococcus aureus* en muestras de manipuladores.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

En los datos de los análisis, resumidos en la Tabla 7-3 y el Gráfico 5-3, se puede observar que durante los tres días de muestreo, los manipuladores presentaron crecimiento de *S. aureus*, pero el trabajador 2 fue el que más contaminación presentó, debido a que desde el día 1 al día 11 ésta fue en aumento; siendo así que todos incumplen con lo establecido con la Norma (<100 UFC/mano) dada por el Ministerio de Salud del Perú (2012, p.5), ya que en Ecuador no se cuentan con éste tipo de especificaciones. Éste microorganismo forma parte de la microbiota normal del cuerpo humano, generalmente se encuentra en sus mucosas, especialmente de la garganta y nariz, y se considera de fácil propagación por el contacto que hay entre las manos y las partes antes mencionadas, siendo imperioso el uso de mascarillas (Deacon, 2012, p.13).

En base a éstos resultados, los propios manipuladores pueden considerarse un foco de contaminación importante, ya que ellos están en contacto directo desde la recepción del fluido biológico que es la leche, hasta el empacado de sus derivados que llegan al consumidor.

Cabe destacar que todos los días de muestreo, las actividades del manipulador 2 consistían en la limpieza de moldes, redes y pesas de todos los quesos; pudiéndose explicar su nivel creciente de contaminación.

3.2.1.2 Aerobios mesófilos

Tabla 8-3: Resultados de Aerobios mesófilos en muestras de manipuladores

| MICROORGANISMO | Aerobios mesófilos (UFC/mano) | | | | | |
|----------------|-------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------|--|
| | DÍA DE MUESTREO | | | PROMEDIO | CV (%) | MIN – MAX OMS* |
| MUESTRA | 1 | 7 | 11 | | | |
| Manipulador 1 | $1,3 \times 10^5$ | $2,5 \times 10^7$ | $2,2 \times 10^7$ | $1,8 \times 10^8$ | 86,4 | $3,9 \times 10^4$ – $4,6 \times 10^6$ UFC/mano |
| Manipulador 2 | $5,2 \times 10^4$ | $1,5 \times 10^7$ | $1,6 \times 10^7$ | $1,1 \times 10^7$ | 86,3 | |
| Manipulador 3 | $7,4 \times 10^4$ | $3,2 \times 10^6$ | $2,9 \times 10^7$ | $2,0 \times 10^7$ | 86,6 | |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

*: Organización Mundial de la Salud.

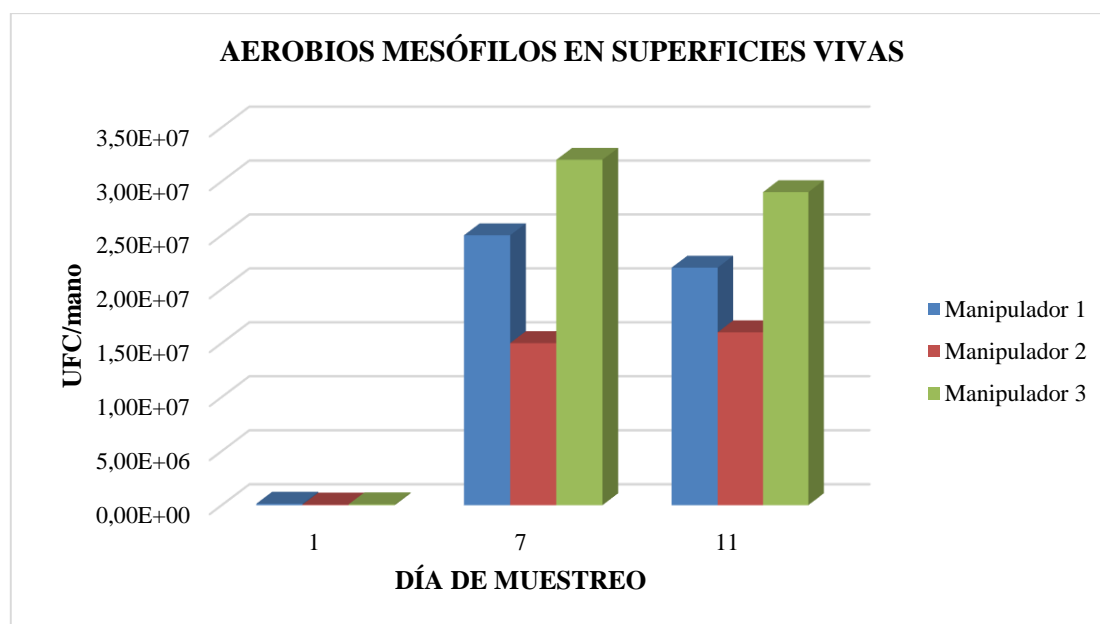


Gráfico 6-3: Valores promedio de resultados de Aerobios mesófilos en muestras de manipuladores.

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Al analizar la Tabla 6-3 en conjunto con el Gráfico 8-3, los tres días de muestreo de superficies vivas (manos de manipuladores), solamente el día 1, todos cumplieron con el límite establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) que establece un máximo permisible de $4,6 \times 10^6$ (2009, p.18), el día 7 únicamente el manipulador 3 se encontró dentro de los parámetros y el día 11, se hallaron por fuera del rango los 3 trabajadores, destacando que el manipulador 1 fue el que mayor promedio de carga microbiana presentó en relación con los demás, lo que indica que su

contacto con la materia prima y el producto era un punto crítico por su alta carga microbiana transitoria.

En base a lo expuesto anteriormente, la microflora normal de las manos pueden dividirse en dos grandes grupos: de carácter residente, cuando los microorganismos se encuentran por debajo del estrato córneo; y de tránsito, cuando puede ser removida por hábitos de higiene. Los aerobios mesófilos pertenecen al segundo grupo, y se caracterizan por sobrevivir en la superficie y esporádicamente multiplicarse si el medio les es favorable para ello; suelen adquirirse por el contacto con superficies anteriormente contaminadas y su transmisión suele depender de la cantidad de bacterias que haya y la humedad de la piel para adherirse a ella (Figueroa y Sánchez, 2007, p.41).

Éstos resultados pueden relacionarse con los obtenidos en una investigación realizada en el año 2007, donde se estudiaron las condiciones higiénico-sanitarias de la manipulación de alimentos por parte de los trabajadores de un comedor para ancianos en Colombia; se descubrió que los manipuladores presentaban microorganismos que indican la deficiente práctica de aseo previa a la preparación de los productos, provocando su inevitable contaminación y su posterior malestar en las personas que los consumían (Bejarano y Fandiño, 2011, p.9).

3.2.1.3 Enterobacterias, *E. coli* y coliformes.

Tabla 9-3: Resultados de Enterobacterias en muestras de manipuladores.

| MICROORGANISMO | Enterobacterias (UFC/mano) | | | | |
|----------------|----------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--------|
| | DÍA DE MUESTREO | | | PROMEDIO | CV (%) |
| | 1 | 7 | 11 | | |
| Manipulador 1 | 3,3 x 10 ⁴ | 3,1 x 10 ⁴ | 2,5 x 10 ⁴ | 3,0 x 10 ⁴ | 14,0 |
| Manipulador 2 | 2,6 x 10 ⁴ | 4,6 x 10 ⁴ | 3,5 x 10 ⁴ | 3,6 x 10 ⁴ | 28,1 |
| Manipulador 3 | 3,3 x 10 ⁴ | 2,5 x 10 ⁴ | 2,1 x 10 ⁴ | 2,6 x 10 ⁴ | 23,2 |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

*: Ministerio de Salud de Perú.

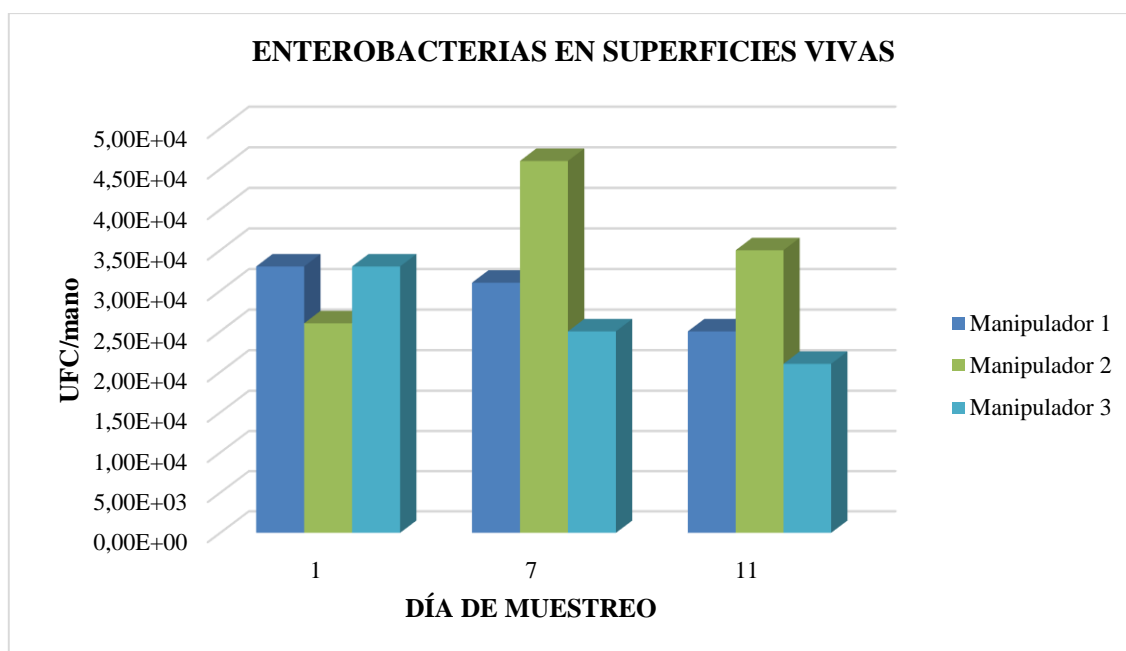


Gráfico 7-3: Valores promedio de resultados de Enterobacterias en muestras de manipuladores.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Tabla 10-3: Resultados de *E. coli* / Coliformes en muestras de manipuladores.

| MICROORGANISMO | <i>Escherichia coli</i> / Coliformes (UFC/mano) | | | | | |
|----------------|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| MUESTRA | DÍA DE MUESTREO | | | | | |
| | 1 | | 7 | | 11 | |
| | <i>E. coli</i> | Coliformes | <i>E. coli</i> | Coliformes | <i>E. coli</i> | Coliformes |
| Manipulador 1 | 8,1 x 10 ¹ | 9,0 x 10 ³ | 2,3 x 10 ⁴ | 6,8 x 10 ⁴ | < 10 | 4,6 x 10 ⁴ |
| Manipulador 2 | 2,7 x 10 ¹ | 4,5 x 10 ³ | < 10 | 3,2 x 10 ⁴ | 9,0 x 10 ³ | 6,5 x 10 ⁴ |
| Manipulador 3 | < 10 | 1,8 x 10 ³ | < 10 | 1,5 x 10 ⁴ | 1,4 x 10 ⁴ | 8 x 10 ⁴ |
| | | | | | | MAX MINSA * |
| | | | | | | < 100 UFC/mano |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

*: Ministerio de Salud de Perú.

Tabla 11-3: Valores promedio de resultados de coliformes y *E. coli* en muestras de manipuladores.

| MICROORGANISMO | <i>Escherichia coli</i> / Coliformes (UFC/mano) | | | |
|----------------|---|-----------------------|----------------|------------|
| MUESTRA | PROMEDIO | | CV (%) | |
| | <i>E. coli</i> | Coliformes | <i>E. coli</i> | Coliformes |
| Manipulador 1 | 7,7 x 10 ³ | 4,1 x 10 ⁴ | 17 | 73 |

| | | | | |
|----------------------|-----------------------|-----------------------|----|----|
| Manipulador 2 | 3,0 x 10 ³ | 3,4 x 10 ⁴ | 17 | 89 |
| Manipulador 3 | 4,7 x 10 ³ | 3,2 x 10 ⁴ | 17 | 13 |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

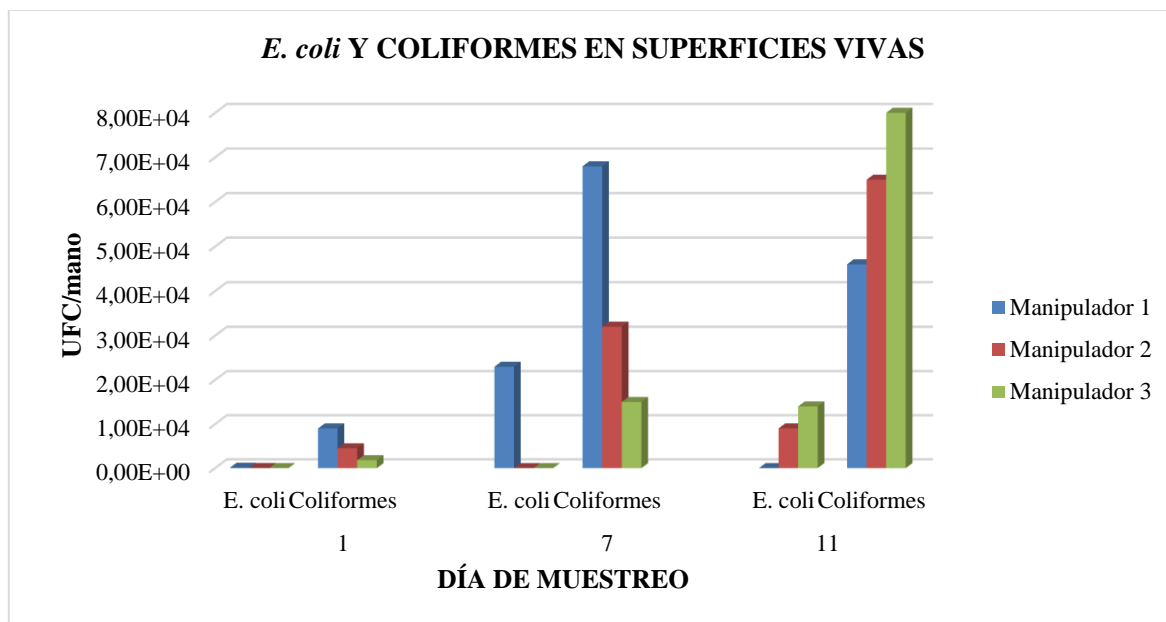


Gráfico 8-3: Valores promedio de resultados de coliformes y *E. coli* en muestras de manipuladores.

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Como se puede observar en las Tablas 9-3, 10-3 y 11-3 los resultados de los análisis de los microorganismos indicadores de la calidad higiénica, se encontraron por encima del límite establecido por MINSA, a excepción de algunos resultados para *E. coli*.

Es importante resaltar que en relación a las enterobacterias, el manipulador 2 demostró tener el mayor promedio de carga microbiana el día 7 de la toma de muestra; mientras que el trabajador 1 presentó el mayor número de UFC/mano de coliformes en conjunto con su concentración de *E. coli* que también fue elevada, en comparación con los días de muestreo restantes y los demás manipuladores, lo cual se consideraría razonable considerando que son microorganismos propios de heces fecales y su presencia es una determinante de la falta de higiene de los trabajadores, siendo contaminantes potenciales de toda superficie, utensilio, materia prima, producto en proceso, por la denominada ruta fecal – oral de manera directa o indirecta (Departamento de Servicios Humanos de Oregon, 2002, p.2).

Si bien éstos valores pueden resultar muy altos en comparación a la norma, un estudio realizado por la Organización Mundial de la Salud (2009, p.15-18), de manipuladores en una empresa de

alimentos, el 18% de ellos presentó este tipo de carga patógena, al querer mejorar su higiene, tomaron acciones correctivas que fueron: Reconocer-Explicar-Actuar, las cuales permitieron, reducir la contaminación a un 3%.

3.2.1.4 Mohos y levaduras

Tabla 12-3: Resultados de mohos y levaduras en muestras de manipuladores.

| MICROORGANISMO | Mohos y levaduras (UFC/mano) | | | | | |
|----------------|------------------------------|-----------|-------------------|-------------------|-------|-------------------|
| MUESTRA | DÍA DE MUESTREO | | | | | |
| | 1 | | 7 | | 11 | |
| | Mohos | Levaduras | Mohos | Levaduras | Mohos | Levaduras |
| Manipulador 1 | < 10 | < 10 | $9,1 \times 10^1$ | $4,9 \times 10^2$ | < 10 | $1,2 \times 10^2$ |
| Manipulador 2 | < 10 | < 10 | < 10 | $2,4 \times 10^2$ | < 10 | $3,6 \times 10^2$ |
| Manipulador 3 | < 10 | < 10 | $6,4 \times 10^1$ | $3,4 \times 10^2$ | < 10 | $2,7 \times 10^2$ |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

*: Ministerio de Salud de Perú.

Tabla 13-3: Valores promedio de resultados de mohos y levaduras en muestras de manipuladores.

| MICROORGANISMO | Mohos y levaduras (UFC/mano) | | | |
|----------------|------------------------------|-------------------|--------|-----------|
| MUESTRA | PROMEDIO | | CV (%) | |
| | Mohos | Levaduras | Mohos | Levaduras |
| Manipulador 1 | $3,7 \times 10^1$ | $2,1 \times 10^2$ | 126 | 122 |
| Manipulador 2 | $1,0 \times 10^1$ | $2,0 \times 10^2$ | 0 | 87,5 |
| Manipulador 3 | $2,8 \times 10^1$ | $2,1 \times 10^2$ | 111 | 84,1 |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

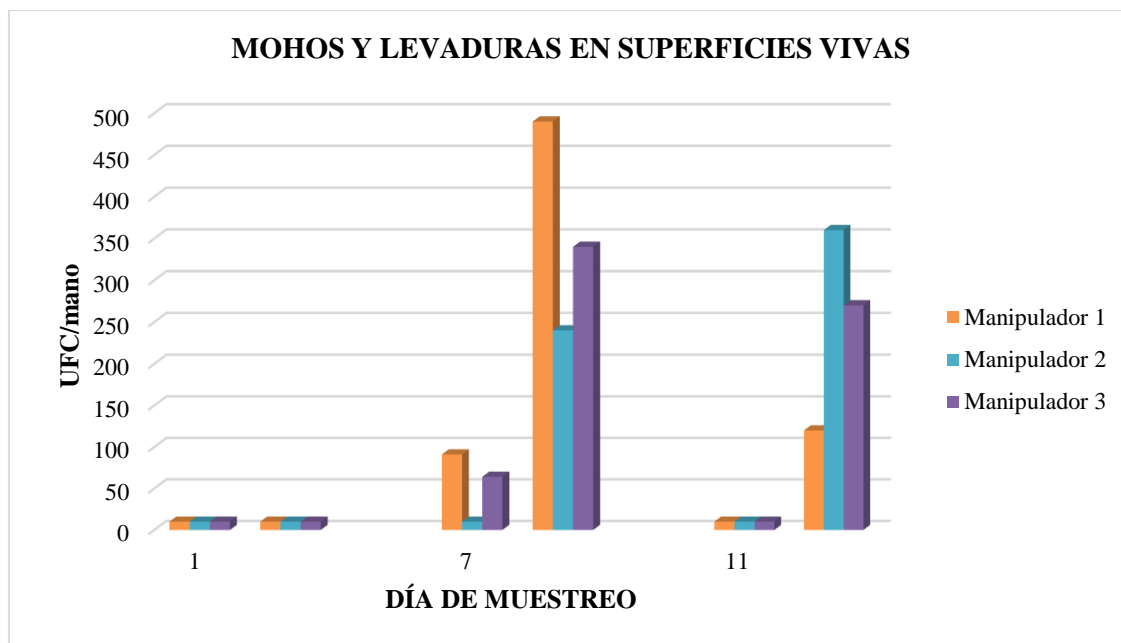


Gráfico 9-3: Valores promedio de resultados de mohos y levaduras en muestras de manipuladores.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Los resultados arrojados al analizar mohos y levaduras en superficies vivas detallados en la Tabla 13-3 y el Gráfico 9-3, puso en evidencia que ningún manipulador cumplía con los requisitos establecidos por MINSA que dictamina que no deben presentarlo en su totalidad, ya que todas las muestras analizadas tuvieron crecimiento, poniendo énfasis en que el manipulador 1 fue el que presentó mayor promedio de éstos microorganismos en relación con los demás operarios.

Como establece Bazán et al. (2001, p.38), ésto es común en personas cuyas ubicaciones les permiten tener elevados niveles de humedad y calor corporal, como ocurre en la quesera artesanal estudiada, ya que al carecer de ventiladores de flujo externo no permite que los vapores resultantes de los procesos de pasteurización puedan escaparse.

Los manipuladores al momento de su llegada se cambian de ropa en los vestidores y se colocan una cofia, botas de caucho y un delantal de material plástico que permite que los líquidos resbalen antes de ingresar al lugar de producción, pero, no lavan sus manos y con la misma vestimenta salen al exterior, ingresando consigo suciedad y carga microbiana.

3.2.2 Ambiente

Tabla 14-3: Resultado microbiológico de ambiente.

| DÍA | PLACAS | MICROORGANISMO | LUGAR | UBICACIÓN* | UFC/m^3 | PROMEDIO | CV (%) | MAX APHA** |
|-----|---------|--------------------|------------------|------------|-------------------|-------------------|--------|----------------------|
| 0 | Sabraud | Mohos y levaduras | TINA DE SALMUERA | Punto A | $8,1 \times 10^1$ | $1,5 \times 10^2$ | 50,3 | $30 \text{ UFC}/m^3$ |
| | | | | Punto B | $1,5 \times 10^2$ | | | |
| | | | | Punto C | $1,1 \times 10^2$ | | | |
| | | | | Punto D | $2,7 \times 10^2$ | | | |
| | | | PUERTA | Punto E | $1,2 \times 10^2$ | | | |
| | | | | | | | | MAX IMA*** |
| | PCA | Aerobios mesófilos | TINA DE SALMUERA | Punto A | $2,6 \times 10^1$ | $7,2 \times 10^1$ | 55,3 | $25 \text{ UFC}/m^3$ |
| | | | | Punto B | $6,3 \times 10^1$ | | | |
| | | | | Punto C | $5,1 \times 10^1$ | | | |
| | | | | Punto D | $9,2 \times 10^1$ | | | |
| | | | PUERTA | Punto E | $1,3 \times 10^2$ | | | |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

*Puntos de ubicación para el muestreo Anexo C.

** Asociación Americana de Salud Pública.

***. Índice de la Contaminación Microbiana de Aire.

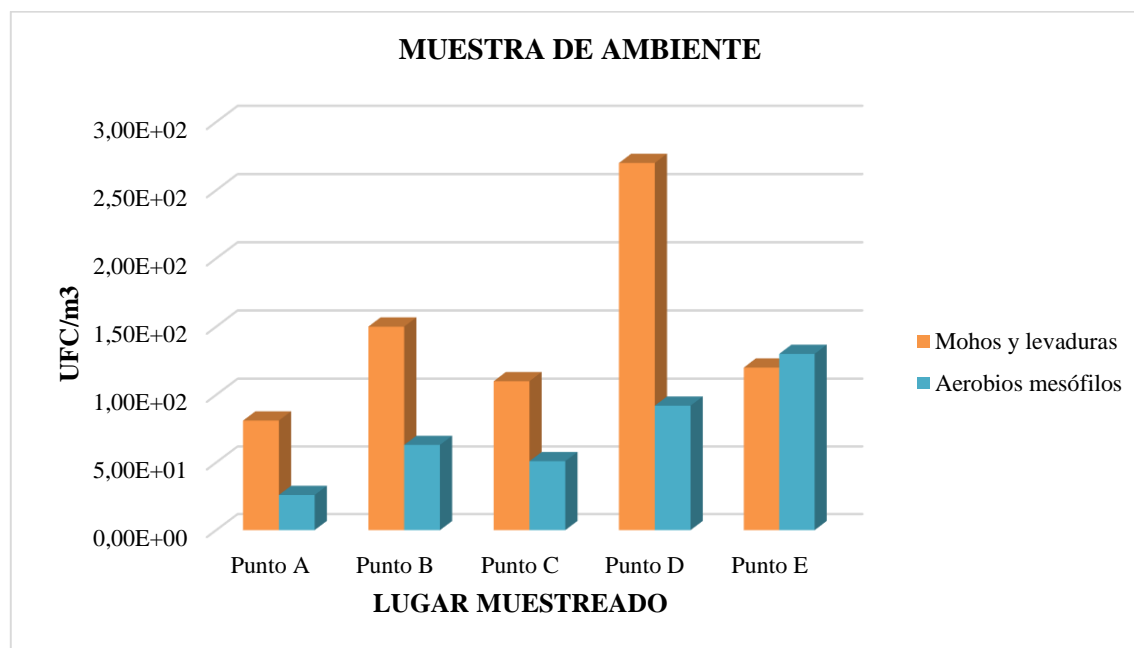


Gráfico 10-3: Valores promedio de resultados de mohos y levaduras en muestras de ambiente.

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

En la Tabla 14-3 y el Gráfico 10-3, se pueden observar los datos obtenidos del muestreo del ambiente de mohos y levaduras y microorganismos aerobios mesófilos; donde se pudo constatar

que los mohos y levaduras sobrepasaban el límite de lo establecido por la Asociación Americana de Salud Pública de Estados Unidos (APHA), que establece un máximo de $30 \text{ UFC}/\text{m}^3$ en los cuatro vértices de las esquinas de las tinas de salmuera muestreadas y en la puerta de acceso cercana a ellas (Pasquarella, Pitzurra y Savino, 2000, p.12).

Éstos resultados pueden deberse a que en la quesera artesanal no existen ventiladores de flujo externo, por lo que los vapores y calor desprendido de los procesos de pasteurización de leche y agua, no pueden escapar, promoviendo un ambiente húmedo idóneo para su proliferación y aumentando sus posibilidades de contaminación de las tinas y quesos que se encuentran en las aproximaciones.

En el caso de las bacterias aerobias mesófilas, el Índice de la Contaminación Microbiana de Aire (IMA), establece que no debe exceder $25 \text{ UFC}/\text{m}^3$, por lo que el único punto muestreado que aprueba lo dictaminado es la muestra de la puerta cercana a la salmuera, proveyéndole la característica de “IMA satisfactorio” (Zamorano 2002, p.43).

3.2.3 *Análisis microbiológico de materia prima*

Como normativa de referencia para la sal en grano, se tomó la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 0057:2010 Sal para consumo humano. Requisitos; ya que no se encontró una específicamente para ella.

3.2.3.1 *Staphylococcus aureus*

Tabla 15-3: Resultados de *Staphylococcus aureus* en muestras de sal y agua.

| MICROORGANISMO | | <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g - UFC/cm ³) | |
|----------------|--------------|---|----------------------------------|
| MUESTRA | | DÍA DE MUESTREO | Min – Max |
| | | 0 | Normativa |
| Sal | Nueva | $6,9 \times 10^2$ | NTE INEN 0057 AUSENCIA |
| | Usada | $2,6 \times 10^4$ | |
| Agua | Pasteurizada | $1,8 \times 10^1$ | Sin- bin y Newman $\leq 10^4$ |
| | Reposo | $1,7 \times 10^2$ | |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Con respecto a los resultados resumidos en la Tabla 15-3, la sal se puede considerar como un medio ideal para *S. aureus* debido a que su pH entre 7 y 8 es el idóneo para que dicho microorganismo pueda crecer y proliferar (Seija, 2003, p.262), sin embargo la Normativa NTE INEN 0057, rige la ausencia de éste microorganismo, misma que se puede denotar mediante los análisis ejecutados que dicha norma no es cumplida, ya que la muestra de sal nueva aunque presenta un número menor de UFC/g en comparación a la usada, ambas sobrepasan los máximos permisibles.

En el caso del agua, aunque no haya una normativa establecida para ella, Sin-bin y Newman, (2014, p.19), establecen que es recomendable que tenga $\leq 10^4$ para que pueda ser consumido por el ser humano y que no se vea perjudicada su salud. El agua posterior a su proceso de pasteurización es considerada aceptable porque elimina toda su carga microbiana patógena, hasta el momento de verterla en el bidón cuyo valor de RLU al ser mayor a 10 indicó que se encontraba contaminado; bajo ésta premisa es comprensible que el número de UFC/mL de *S. aureus* aumente y, una vez que se mezcla con sal que ya presentaba contaminación, se convierte en un medio no adecuado para el proceso de salado de los quesos.

Tabla 16-3: Resultados de *Staphylococcus aureus* en muestras de salmuera.

| MICROOR GANISMO | | <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/cm ³) | | | | | | | | |
|--------------------|---------------|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------|
| MUESTRA | | DIA DE MUESTREO | | | | | | | | Min |
| | | 0 | 1 | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 | 12 | – Max |
| Salmuera | Tina superior | 3,2 x 10 ⁴ | 2,2 x 10 ⁶ | 1,9 x 10 ⁶ | 1,6 x 10 ⁶ | 1,2 x 10 ⁶ | 1,4 x 10 ⁶ | 1,4 x 10 ⁶ | 1,2 x 10 ⁶ | N/E |
| | Tina inferior | 3,0 x 10 ⁴ | 2,0 x 10 ⁶ | 1,5 x 10 ⁶ | 1,1 x 10 ⁶ | 8,7 x 10 ⁵ | 4,8 x 10 ⁵ | 6,6 x 10 ⁵ | 4,3 x 10 ⁵ | |

N/E: No Encontrado.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Tabla 17-3: Valores promedio de resultados de *Staphylococcus aureus* en muestras de salmuera.

| MICROORGANISMO | <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/cm ³) | |
|----------------|---|--------|
| MUESTRA | PROMEDIO | CV (%) |

| | | |
|---------------------------|-------------------|------|
| Tina superior de salmuera | $1,4 \times 10^6$ | 46,9 |
| Tina inferior de salmuera | $8,8 \times 10^5$ | 71,8 |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

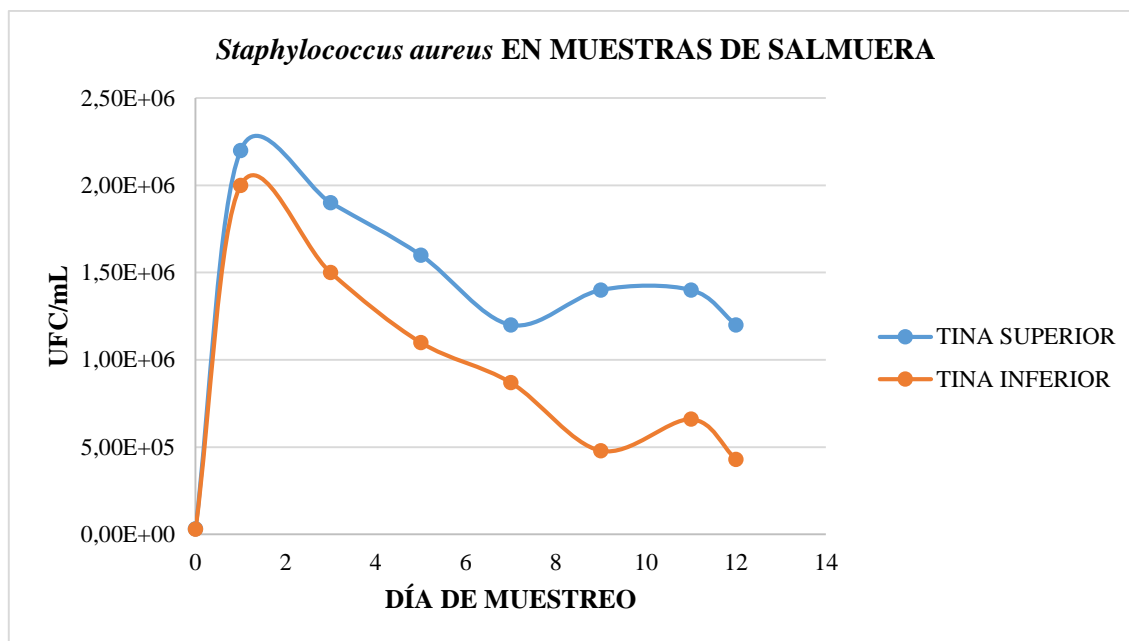


Gráfico 11-3: Valores promedio de resultados de *Staphylococcus aureus* en muestras de salmuera.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Como se puede observar en las Tabla de resultados 16-3 y 17-3 y el Gráfico 11-3, la carga microbiana de *S. aureus* en ambas soluciones saturadas, aumentó en el segundo día de muestreo y presentó fluctuaciones conforme pasaba el tiempo debido a que se añadía más agua o más sal según el criterio del operario que se encontraba a cargo de las tinas de salmuera en el día de la toma de muestra; éstos procedimientos al no encontrarse estandarizados, no se puede ofrecer datos que relacionen el volumen de lo agregado con su carga microbiana.

La diferencia de UFC/cm³ entre las dos tinas también es notable; ya que los valores de la tina inferior pueden explicarse debido a la condensación que se producía en la base de la tina superior llevando a contaminar la dilución con la suciedad y microorganismos que se encuentran en sus exteriores, mientras que la tina superior tiene contacto directo con el ambiente inadecuado del área de producción.

Cabe mencionar que desde el día 1 hasta el día 12, los resultados de éste microorganismo se encontraban por encima de lo establecido para producir una infección a nivel gastrointestinal, ya

que el nivel máximo permitido es de $\leq 10^5$, y, aunque ésta no se consuma de manera directa, va a ser absorbida por los quesos en conjunto con su carga microbiana (Instituto Nacional de Salud de Colombia, 2011, p.29).

Tabla 18-3: Resultados de *Staphylococcus aureus* en muestras de quesos.

| MICROORGANISMO | | <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g) | | | | | | |
|----------------------------|----|--------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|
| MUESTRA | | DÍA DE MUESTREO | | | | | | MAX NTE INEN 1528 |
| | | 1 | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 | |
| Queso antes de salado | Q1 | $2,4 \times 10^4$ | $2,0 \times 10^2$ | $1,7 \times 10^2$ | $2,0 \times 10^2$ | $1,6 \times 10^2$ | $1,7 \times 10^2$ | Máximo permisible 10^2 |
| | Q2 | $2,2 \times 10^4$ | $1,6 \times 10^2$ | $1,6 \times 10^2$ | $1,6 \times 10^2$ | $1,9 \times 10^2$ | $1,8 \times 10^2$ | |
| | Q3 | $2,2 \times 10^4$ | $1,8 \times 10^2$ | $1,8 \times 10^2$ | $1,6 \times 10^2$ | $1,7 \times 10^2$ | $1,9 \times 10^2$ | |
| | Q4 | $2,6 \times 10^4$ | $2,0 \times 10^2$ | $1,7 \times 10^2$ | $1,4 \times 10^2$ | $1,0 \times 10^2$ | $7,9 \times 10^1$ | |
| Queso después de salado | Q1 | $2,0 \times 10^4$ | $1,3 \times 10^6$ | $9,0 \times 10^5$ | $8,2 \times 10^5$ | $6,2 \times 10^5$ | $3,0 \times 10^5$ | |
| | Q2 | $1,8 \times 10^4$ | $1,1 \times 10^6$ | $7,5 \times 10^5$ | $6,0 \times 10^5$ | $5,9 \times 10^5$ | $3,0 \times 10^5$ | |
| | Q3 | $1,8 \times 10^4$ | $1,3 \times 10^6$ | $1,0 \times 10^6$ | $7,1 \times 10^5$ | $4,8 \times 10^5$ | $3,7 \times 10^5$ | |
| | Q4 | $1,7 \times 10^4$ | $1,1 \times 10^6$ | $7,5 \times 10^5$ | $5,8 \times 10^5$ | $3,8 \times 10^5$ | $2,9 \times 10^5$ | |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Tabla 19-3: Valores promedio de los resultados de *Staphylococcus aureus* de los quesos antes y después del proceso de salado.

| MICROORGANISMO | | | Staphylococcus aureus (UFC/g) | | | | | | | | | |
|-------------------------|-----------------------------|--------|-------------------------------|--------|-----------------------------|--------|-----------------------------|--------|-----------------------------|--------|-----------------------------|--------|
| DÍAS | 1 | | 3 | | 5 | | 7 | | 9 | | 11 | |
| | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) |
| QUESOS ANTES DEL SALADO | 2,4 x 10 ⁴ | 8,1 | 1,9 x 10 ² | 10,4 | 1,7 x 10 ² | 4,8 | 1,7 x 10 ² | 15,3 | 1,6 x 10 ² | 25 | 3,3 x 10 ² | 91,8 |

| | | | | | | | | | | | | |
|--|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| QUESOS DESPUÉS DEL SALADO | 1,8 x 10 ⁴ | 6,9 x 10 ⁶ | 1,2 x 10 ⁶ | 9,6 x 10 ⁵ | 8,5 x 10 ⁵ | 14,4 x 10 ⁵ | 6,8 x 10 ⁵ | 16,4 x 10 ⁵ | 5,2 x 10 ⁵ | 21,2 x 10 ⁵ | 3,2 x 10 ⁵ | 11,7 x 10 ⁵ |
|--|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|

Elaborado por: Kimberly León, 2018.



Gráfico 12-3: Valores promedio de los resultados de *Staphylococcus aureus* de los quesos antes y después del proceso de salado.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Como se puede observar en la Tabla 18-3 y el Gráfico 12-3; el número de UFC/g de producto en todos los casos, exceptuando la muestra 4 antes del salado en el día 11, se encontraron por encima del máximo permitido para poderlos considerar de calidad como dicta la NTE INEN 1528:2012; las muestras analizadas antes del proceso de salado poseen una carga microbiana menor en comparación a los analizados después de su paso por salmuera, como lo indica el Gráfico 12-3, este fenómeno pueden ser un indicativo de que los procesos previos que involucran a su elaboración, no son llevados a cabo de manera higiénica, ya que el *Staphylococcus aureus* es parte de la microbiota normal de los seres humanos, pudiendo contaminar los alimentos de manera general si son manipulados de manera incorrecta. (Deacon, 2012, p.24).

Es importante destacar que el día 3 del muestreo, los quesos después del salado presentaron su pico más alto de carga microbiana, disminuyendo paulatinamente con el transcurso de los días; éste fenómeno puede explicarse ya que la salmuera resulta un medio ideal de crecimiento y proliferación para estos microorganismos ya que según Zendejas, Avalos y Soto (2014, pp.31-32), pueden vivir fácilmente en altas concentraciones de cloruro de sodio debido a que pueden regular su consumo; de modo que si la salmuera ya contiene una carga microbiana alta, va a ser un foco

contaminante para los quesos que pasen por ella, aumentando su contenido en cada uno de ellos; cabe mencionar que para que el *S. aureus* pueda producir una ETA, se necesitan al menos 100 UFC/g, condición que se cumple en todos los casos, convirtiendo este producto un peligro para la salud del consumidor.

Éstos resultados pueden apoyarse en la investigación realizada por (Yugcha, 2016, pp.41-45) donde estableció que todas las muestras de quesos recolectadas en las zonas rurales de Riobamba entre ellas Quimiag, tampoco cumplían con la Normativa en cuanto a éste microorganismo, ya que de los 24 quesos analizados el 100% presentó incumplimiento.

3.2.3.2 Aerobios mesófilos

Tabla 20-3: Resultados de Aerobios mesófilos en muestras de sal y agua.

| MICROORGANISMO | | Aerobios mesófilos (UFC/g - UFC/cm ³) | |
|----------------|--------------|---|--|
| MUESTRA | | DÍA DE MUESTREO | MAX |
| | | 0 | |
| Sal | Nueva | 1 x 10 ³ | NTE INEN 0057 <2 x 10 ⁴ |
| | Usada | 4,6 x 10 ⁴ | |
| Agua | Pasteurizada | 0 | Grupo Alimentos Sociedad Española de Microbiología <100 UFC/cm ³ |
| | Reposo | 3,1 x 10 ⁴ | |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

El análisis de las muestras de sal (Tabla 20-3), demostró que solamente la que se encontraba nueva, podía ser utilizada sin riesgo alguno, ya que cumplía con la normativa, mientras que la sal usada presentó una carga microbiana mayor a la dictaminada; la sal reutilizada al haber estado previamente en contacto con quesos, agua, suero, entre otros, posee un elevado nivel de agentes patógenos llevando a que el producto nuevo contenga una contaminación inicial representativa.

Los aerobios mesófilos son microorganismos que se desarrollan en un rango de temperatura del 20 a 40 °C por lo tanto en las muestras de cloruro de sodio como las muestras de agua se dio la presencia de este microorganismo y no necesariamente por la coexistencia de alguna contaminación patógena, sino por prestarse las condiciones adecuadas para su crecimiento (Figuerola y Sánchez 2007, p.51).

En el caso del agua, no hay una normativa referente para su análisis; pero según el Grupo de

Alimentos de la Sociedad Española de Microbiología (2003, p.3), debe tener menos de 100 UFC/mL, mismo que nos permite deducir que el agua que dejan reposar en el bidón no cumple con el valor referente por lo cual no debería ser usada.

Tabla 21-3: Resultados de Aerobios mesófilos en muestras de salmuera.

| MICROOR GANISMO | | Aerobios mesófilos (UFC/cm ³) | | | | | | | | |
|--------------------|---------------|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|--------------|
| MUESTRA | | DIA DE MUESTREO | | | | | | | | Min – Max |
| | | 0 | 1 | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 | 12 | |
| Salmuera | Tina superior | 6,1 x 10 ⁴ | 5,2 x 10 ⁶ | 3,7 x 10 ⁸ | 4,0 x 10 ⁹ | 5,1 x 10 ⁹ | 5,3 x 10 ¹⁰ | 2,8 x 10 ¹¹ | 2,9 x 10 ¹¹ | N/E |
| | Tina inferior | 5,4 x 10 ⁴ | 4,9 x 10 ⁶ | 3,7 x 10 ⁸ | 3,7 x 10 ⁹ | 4,1 x 10 ⁹ | 4,0 x 10 ¹⁰ | 3,9 x 10 ¹¹ | 4,5 x 10 ¹² | |

N/E: No Encontrado.

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Tabla 22-3: Valores promedio de resultados de Aerobios mesófilos en muestras de salmuera.

| MICROORGANISMO | Aerobios mesófilos (UFC/cm ³) | |
|---------------------------|---|--------|
| MUESTRA | PROMEDIO | CV (%) |
| Tina superior de salmuera | 7,9 x 10 ¹⁰ | 16,2 |
| Tina inferior de salmuera | 6,1 x 10 ¹¹ | 25,5 |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.



Gráfico 13-3: Valores promedio de resultados de Aerobios mesófilos en muestras de salmuera.

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Concatenando los resultados de las Tablas 20-3 con las tablas 21-3 y 22-3 se puede prever que la carga microbiana en cuanto a aerobios mesófilos va a ser alta y, en conjunto con los demás factores predisponentes como el contacto que tiene directamente con los manipuladores y utensilios, va a provocar que se siga proliferando conforme pasan los días, convirtiendo a la solución en un contaminante importante del producto final (quesos).

Según Ventosa, Nieto y Oren (1998, p.3), en su investigación “Biología de las Bacterias Aerobias Halófilas Moderadas” dan a conocer que las bacterias mesófilas pueden llegar a convertirse en halotolerantes moderadas, siendo menos estudiadas porque son un grupo amplio y heterogéneo cuyo conocimiento hasta la actualidad se ve limitado porque su caracterización puede llegar a ser compleja debido a que lo hacen en base a las variaciones de salinidad del medio donde viven; también pueden llegar a considerarse como anaerobios facultativos pero no en su totalidad.

En el estudio antes mencionado, se analizaron muestras de alimentos curados donde se encontraron los siguientes microorganismos: *Vibrio costicola*; *Micrococcus halobius*; *Paracoccus halodenitrificans*; *Flavobacterium halmephilum*; *Planococcus halophilus* y *Spirochaeta halophila*; los cuales hasta el presente se encuentran siendo estudiados para conocer sus mecanismos adaptativos de “haloadaptación” que les permite propagarse (Ventosa, Nieto y Oren 1998, pp.4-5).

Tabla 23-3: Resultados de Aerobios mesófilos en muestras de queso.

| MICROORGANISMO | | Aerobios mesófilos (UFC/g) | | | | | | |
|----------------------------|----|----------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| MUESTRA | | DÍA DE MUESTREO | | | | | | MAX NTP* 202.087 |
| | | 1 | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 | |
| Queso antes de salado | Q1 | 5,1 x 10 ⁴ | 3,9 x 10 ² | 3,8 x 10 ⁸ | 3,3 x 10 ⁹ | 2,9 x 10 ¹¹ | 2,4 x 10 ¹¹ | ≤ 10 ⁷ |
| | Q2 | 5,7 x 10 ⁴ | 4,7 x 10 ² | 3,4 x 10 ⁸ | 3,0 x 10 ⁹ | 3,2 x 10 ¹¹ | 2,6 x 10 ¹¹ | |
| | Q3 | 4,2 x 10 ⁴ | 3,8 x 10 ² | 3,2 x 10 ⁸ | 3,4 x 10 ⁹ | 2,7 x 10 ¹¹ | 2,7 x 10 ¹¹ | |
| | Q4 | 3,0 x 10 ⁴ | 3,4 x 10 ² | 2,4 x 10 ⁸ | 2,4 x 10 ⁹ | 1,9 x 10 ¹¹ | 1,9 x 10 ¹¹ | |
| Queso después de salado | Q1 | 3,2 x 10 ⁴ | 1,2 x 10 ⁶ | 2,1 x 10 ⁸ | 2,6 x 10 ⁹ | 2,7 x 10 ¹¹ | 1,6 x 10 ¹¹ | |
| | Q2 | 3,5 x 10 ⁴ | 1,4 x 10 ⁶ | 2,0 x 10 ⁸ | 2,2 x 10 ⁹ | 2,4 x 10 ¹¹ | 1,2 x 10 ¹¹ | |
| | Q3 | 5,5 x 10 ⁴ | 1,9 x 10 ⁶ | 3,8 x 10 ⁸ | 4,2 x 10 ⁹ | 2,8 x 10 ¹¹ | 4,3 x 10 ¹¹ | |
| | Q4 | 5,3 x 10 ⁴ | 2,2 x 10 ⁶ | 3,3 x 10 ⁸ | 3,2 x 10 ⁹ | 2,9 x 10 ¹¹ | 2,7 x 10 ¹² | |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

*: Norma Técnica Nacional Peruana

Tabla 24-3: Valores promedio de los resultados de aerobios mesófilos de los quesos antes y después del proceso de salado.

| MICROORGANISMO | | | Aerobios mesófilos (UFC/g) | | | | | | | | | |
|---------------------------|-----------------------------|--------|-----------------------------|--------|-----------------------------|--------|-----------------------------|--------|------------------------------|--------|------------------------------|--------|
| DÍAS | 1 | | 3 | | 5 | | 7 | | 9 | | 11 | |
| | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) |
| QUESOS ANTES DEL SALADO | 4,5 x 10 ⁴ | 26,1 | 3,9 x 10 ² | 13,8 | 3,2 x 10 ⁸ | 18,4 | 3,0 x 10 ⁹ | 14,9 | 2,7 x 10 ¹¹ | 20,8 | 2,4 x 10 ¹¹ | 14,8 |
| QUESOS DESPUÉS DEL SALADO | 4,4 x 10 ⁴ | 27,3 | 1,7 x 10 ⁶ | 27,3 | 2,8 x 10 ⁸ | 31,8 | 3,1 x 10 ⁹ | 28,5 | 2,7 x 10 ¹¹ | 8,0 | 8,5 x 10 ¹¹ | 145 |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.



Gráfico 14-3: Valores promedio de los resultados de aerobios mesófilos de los quesos antes y después del proceso de salado.

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

En las Tablas 23-3 y 24-3 se recogen los datos obtenidos de los análisis de aerobios mesófilos en quesos, donde se puede observar que hay un comportamiento marcado; desde el día 1 al día 9 de muestreo, los quesos analizados antes de su inmersión en salmuera tienen una carga microbiana mayor a la que presentan después de ella, mientras que en el muestreo del día 11, los resultados después del proceso de salado son mayores a los establecidos por la Norma Técnica Peruana NTP 202.087; sin embargo, si se toma en cuenta los promedios, se puede determinar que 9 y 11 fueron críticos para la calidad del producto final, debido a que hubo mayor carga microbiana en queso posterior a su proceso de salado (Delgado y Torres, 2003, p.23).

Las fluctuaciones antes mencionadas, se pueden entender debido a que no todos los aerobios mesófilos son halotolerantes por ello, al momento de introducir el queso en esta solución saturada no pueden adaptarse tan rápidamente provocando su destrucción (Ventosa, Nieto y Oren, 1998, p.3). En cambio en el último caso los microorganismos tuvieron más tiempo para ejecutar sus mecanismos de haloadaptación debido a que los dejaron por un lapso prolongado de tiempo en las tinas hasta el retorno de los manipuladores que fue alrededor de 12 horas.

Es necesario mencionar que su presencia no indica contaminación necesariamente con microorganismos patógenos, si no que permite de manera indirecta evaluar los procesos de

limpieza y de calidad higiénica a la que se ve sometida el proceso de elaboración (Organización Mundial de la Salud, 2015, p.13).

3.2.3.3 Enterobacterias, *E. coli* y coliformes

Tabla 25-3: Resultados de Enterobacterias, *E. coli* y coliformes en muestras de sal y agua.

| MICROORGANISMO | | Enterobacterias (UFC/g - UFC/cm³) | | | |
|----------------|--------------|-----------------------------------|-----------------------|-----------------------|---------------|
| MUESTRA | | DÍA DE MUESTREO | | | MAX |
| | | 0 | | | |
| | | Enterobacterias | <i>E. coli</i> | Coliformes | |
| Sal | Nueva | 1,0 x 10 ¹ | 0 | 1,8 x 10 ² | NTE INEN 0057 |
| | Usada | 1,4 x 10 ² | < 10 | 4,5 x 10 ¹ | AUSENCIA |
| Agua | Pasteurizada | 0 | 0 | 0 | MINSA* |
| | Reposo | 2,1 x 10 ³ | 2,7 x 10 ¹ | 3,6 x 10 ¹ | AUSENCIA |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

*: Ministerio de Salud del Perú

Al observar los valores de la Tabla 25-3; se puede establecer que las muestras de sal y agua en reposo no cumplen con la norma ya que presentan crecimiento microbiano aun cuando la normativa establece la ausencia de los mismos. En el caso de la sal nueva y usada especialmente, su contaminación directa puede ser por los mismos operarios de la quesera artesanal encargados de su manipulación o por contaminación cruzada por el contacto que tiene con el ambiente, los diferentes utensilios en la zona de producción, el agua, entre otros.

En el caso del agua pasteurizada, éste proceso sí demuestra ser efectivo porque no hay presencia de enterobacterias, *E. coli* y coliformes; pero se puede denotar que la principal falencia es que los mismos manipuladores la dejan reposar en bidones para que pueda alcanzar temperatura ambiente y pueda ser utilizada para la preparación de salmuera; sin embargo ésta actividad hace que todo el proceso pierda efectividad porque el bidón está contaminado al igual que las manos de los trabajadores que las sumergen en la solución saturada como se comprobó en la medición de Adenosín Trifosfato (ATP).

Las malas prácticas de higiene son reveladas al momento de analizar estos microorganismos porque se pueden tomar en cuenta las deficiencias de los procesos sanitarios que van desde el lavado de manos, uso de indumentaria y limpieza de instalaciones; su detección causa preocupación en la industria alimentaria porque su transmisión al darse por vía fecal-oral, puede

causar problemas en la salud de los consumidores y a su vez un mayor deterioro y menor tiempo de vida útil del producto en cuestión (Puerta-García y Rodríguez-Mateos, 2010, p.45).

Tabla 26-3: Resultados de Enterobacterias en muestras de salmuera.

| MICROORGANISMO | | Enterobacterias (UFC/cm ³) | | | | | | | | |
|----------------|---------------|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------|
| MUESTRA | | DIA DE MUESTREO | | | | | | | | Min - Max |
| | | 0 | 1 | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 | 12 | |
| Salmuera | Tina superior | 0 | 6,3 x 10 ² | 3,6 x 10 ² | 9,8 x 10 ² | 4,6 x 10 ² | 2,8 x 10 ² | 1,8 x 10 ² | 2,8 x 10 ² | N/E |
| | Tina inferior | 0 | 5,0 x 10 ² | 4,5 x 10 ² | 7,1 x 10 ² | 6,3 x 10 ² | 4,8 x 10 ² | 2,6 x 10 ² | 3,3 x 10 ² | |

N/E: No Encontrado.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Tabla 27-3: Valores promedio de resultados de Enterobacterias en muestras de salmuera.

| MICROORGANISMO | Enterobacterias (UFC/cm ³) | |
|---------------------------|--|--------|
| MUESTRA | PROMEDIO | CV (%) |
| Tina superior de salmuera | 3,7 x 10 ² | 75,8 |
| Tina inferior de salmuera | 4,8 x 10 ² | 46,5 |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

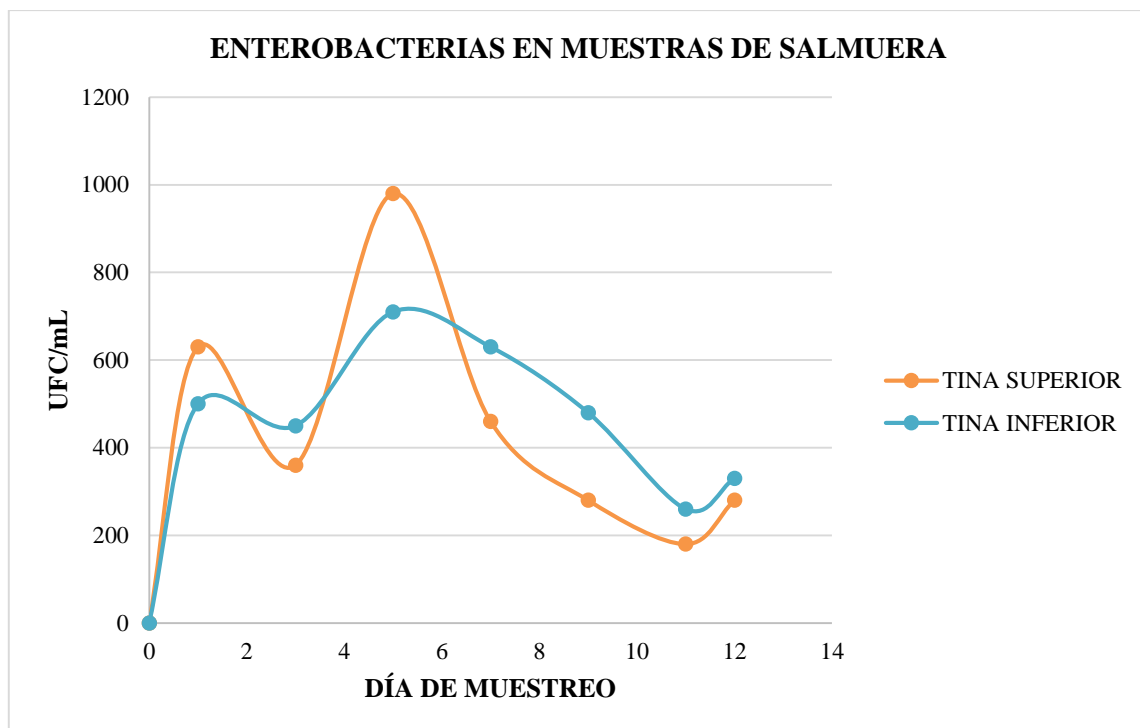


Gráfico 15-3: Valores promedio de resultados de Enterobacterias en muestras de salmuera.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Tabla 28-3: Resultados de *E. coli* en muestras de salmuera.

| MICROORGANISMO | | <i>E. coli</i> (UFC/cm ³) | | | | | | | |
|----------------|---------------|---------------------------------------|------|------|-----------------------|------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| MUESTRA | | DÍA DE MUESTREO | | | | | | | |
| | | 0 | 1 | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 | 12 |
| Salmuera | Tina superior | < 10 | < 10 | < 10 | 7,3 X 10 ¹ | < 10 | < 10 | 6,4 x 10 ¹ | < 10 |
| | Tina inferior | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | 9,1 x 10 ¹ | 1,1 x 10 ² | 1,5 x 10 ² |
| | | N/E | | | | | | | |

N/E: No Encontrado.

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Tabla 29-3: Resultados de Coliformes en muestras de salmuera.

| MICROORGANISMO | | Coliformes (UFC/cm ³) | | | | | | | |
|----------------|--|-----------------------------------|---|---|---|---|---|----|----|
| MUESTRA | | DÍA DE MUESTREO | | | | | | | |
| | | 0 | 1 | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 | 12 |
| | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | |
|----------|---------------|------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----|
| Salmuera | Tina superior | < 10 | $3,8 \times 10^2$ | $4,5 \times 10^2$ | $5,3 \times 10^2$ | $2,2 \times 10^2$ | $2,9 \times 10^2$ | $2,4 \times 10^2$ | $2,5 \times 10^2$ | N/E |
| | Tina inferior | < 10 | $2,0 \times 10^2$ | $2,7 \times 10^2$ | $4,1 \times 10^2$ | $2,3 \times 10^2$ | $5,4 \times 10^2$ | $2,6 \times 10^2$ | $3,7 \times 10^2$ | |

N/E: No Encontrado.

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Tabla 30-3: Valores promedios de los resultados de *E. coli* y coliformes en muestras de salmuera.

| MICROORGANISMO | E. coli / Coliformes (UFCcm ³) | | | |
|---------------------------|--|-------------------|---------|------------|
| MUESTRA | PROMEDIO | | CV (%) | |
| | E. coli | Coliformes | E. coli | Coliformes |
| TINA SUPERIOR DE SALMUERA | $2,5 \times 10^1$ | $3,0 \times 10^2$ | 110,4 | 53,8 |
| TINA INFERIOR DE SALMUERA | $5,0 \times 10^1$ | $2,9 \times 10^2$ | 230,1 | 55,1 |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

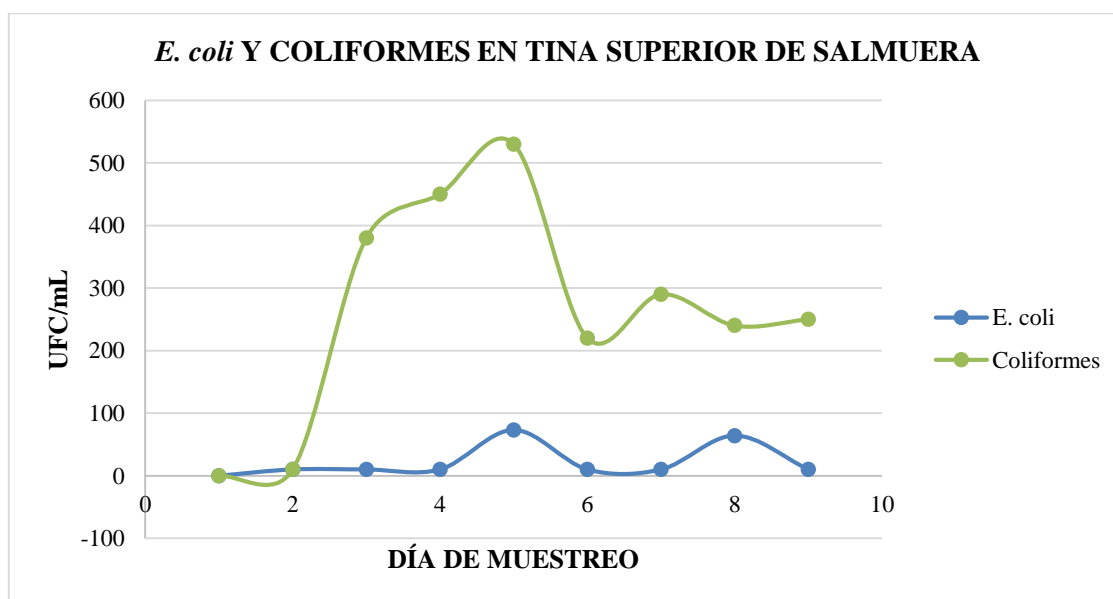


Gráfico 16-3: Valores promedios de los resultados de *E. coli* y coliformes en muestras de salmuera de la tina superior.

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

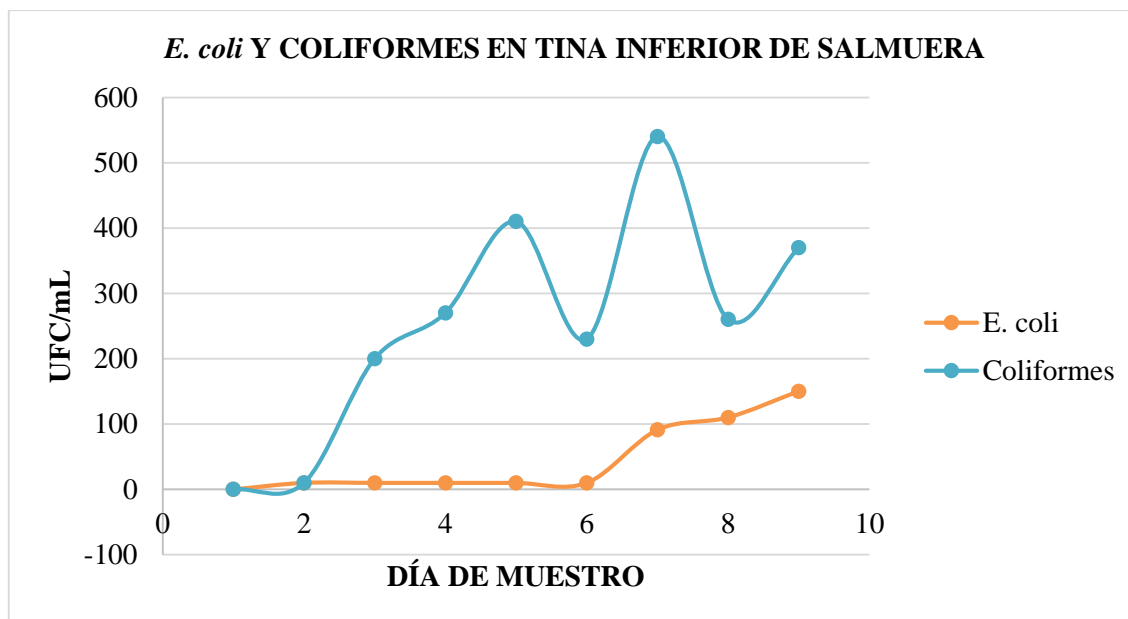


Gráfico 17-3: Valores promedios de los resultados de *E. coli* y coliformes en muestras de salmuera de la tina inferior.

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

En las muestras analizadas de salmuera se pudo observar que todos presentaban crecimiento microbiano de enterobacterias, *Escherichia coli* y coliformes, como se detalla en las Tablas 27-3, 28-3 y 29-3; si bien no hay normas que permitan dictaminar sus límites microbiológicos permisibles; en el caso de estos microorganismos, idealmente debería presentar ausencia, porque son un reflejo de prácticas higiénico-sanitarias deficientes; dejando reflejado que todo el proceso en la quesera es inadecuado.

Uno de los principales contaminadores de las tinas, son los propios operarios sin contar con la materia prima que se utiliza; ya que al no ser distribuidos por zonas, suelen contaminarse entre procesos, los cuales involucran: limpieza, recepción de leche, desmoldado, entre otros; además de actos que, por su propio descuido pueden alterar aún más el crecimiento microbiano, como: hundimiento de esferos y material de limpieza, dando lugar a la denominada contaminación cruzada que puede ser de distintos tipos: de materia prima a materia prima, de producto en proceso a producto en proceso, de operador a materia prima o producto en proceso y de utensilios a producto en proceso o materia prima (Tell, 2011, p.1).

De manera especial en el caso de la *Escherichia coli*, el biólogo Jorge Gómez (2014, p.4), descubrió que tiene la capacidad de formar una coraza a su alrededor, que le permite crecer en medios salinos aunque sea de forma lenta, ya que simula inactivación y, al detectar que el medio es rico en humedad nuevamente crece exponencialmente, lo que puede explicar su tendencia de crecimiento

en la salmuera.

Tabla 31-3: Resultados de Enterobacterias en muestras de queso.

| MICROOR GANISMO | | Enterobacterias (UFC/g) | | | | | | |
|----------------------------|----|-------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|---|
| MUESTRA | | DIA DE MUESTREO | | | | | | MAX NTE INEN 1528 |
| | | 1 | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 | |
| Queso antes de salado | Q1 | 1,1 x 10 ⁴ | 1,3 x 10 ⁴ | 1,2 x 10 ⁴ | 1,4 x 10 ⁵ | 1,5 x 10 ⁵ | 1,8 x 10 ⁵ | Máximo permisible 10 ³ |
| | Q2 | 1,3 x 10 ⁴ | 1,6 x 10 ⁴ | 1,4 x 10 ⁴ | 1,4 x 10 ⁵ | 1,7 x 10 ⁵ | 1,4 x 10 ⁵ | |
| | Q3 | 9,5 x 10 ³ | 1,4 x 10 ⁴ | 1,1 x 10 ⁴ | 1,3 x 10 ⁵ | 1,4 x 10 ⁵ | 1,3 x 10 ⁵ | |
| | Q4 | 1,1 x 10 ⁴ | 1,3 x 10 ⁴ | 1,6 x 10 ⁴ | 1,7 x 10 ⁵ | 1,1 x 10 ⁵ | 8,1 x 10 ⁴ | |
| Queso después de salado | Q1 | 8,9 x 10 ² | 4,5 x 10 ³ | 6,5 x 10 ³ | 5,1 x 10 ⁴ | 3,0 x 10 ⁴ | 1,9 x 10 ⁴ | |
| | Q2 | 1,2 x 10 ⁴ | 8,0 x 10 ³ | 1,1 x 10 ⁴ | 1,2 x 10 ⁵ | 6,6 x 10 ⁴ | 3,8 x 10 ⁴ | |
| | Q3 | 5,2 x 10 ² | 4,0 x 10 ³ | 7,3 x 10 ³ | 8,8 x 10 ⁴ | 1,0 x 10 ⁵ | 1,2 x 10 ⁵ | |
| | Q4 | 1,2 x 10 ³ | 4,0 x 10 ³ | 8,6 x 10 ³ | 9,9 x 10 ⁴ | 1,4 x 10 ⁵ | 1,6 x 10 ⁵ | |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Tabla 32-3: Valores promedio de los resultados de enterobacterias en quesos antes y después del proceso de salado.

| MICROORGANISMO | | | Enterobacterias (UFC/g) | | | | | | | | | |
|---------------------------|-----------------------------|--------|-----------------------------|--------|------------------------------|--------|-----------------------------|--------|-----------------------------|--------|-----------------------------|--------|
| DÍAS | 1 | | 3 | | 5 | | 7 | | 9 | | 11 | |
| | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) |
| QUESOS ANTES DEL SALADO | 1,1 x 10 ⁴ | 12,9 | 1,4 x 10 ⁴ | 10,1 | 1,33 x 10 ⁴ | 16,7 | 1,5 x 10 ⁵ | 11,9 | 1,4 x 10 ⁵ | 17,5 | 1,3 x 10 ⁵ | 30,7 |
| QUESOS DESPUÉS DEL SALADO | 1,6 x 10 ⁴ | 14,7 | 5,1 x 10 ³ | 37,7 | 8,4 x 10 ³ | 23,6 | 8,9 x 10 ⁴ | 32,3 | 8,4 x 10 ⁴ | 56 | 8,4 x 10 ⁴ | 79,4 |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Tabla 33-3: Resultados de *E. coli* en muestras de queso.

| MICROORGANISMO | | <i>E. coli</i> (UFC/g) | | | | | | |
|----------------------------|----|------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|
| MUESTRA | | DÍA DE MUESTREO | | | | | | MAX NTE INEN 1528 |
| | | 1 | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 | |
| Queso antes de salado | Q1 | 1,9 x 10 ³ | 2,6 x 10 ⁵ | 2,4 x 10 ⁵ | 1,0 x 10 ⁵ | 1,5 x 10 ⁵ | 2,3 x 10 ⁵ | Máximo permisible 10 |
| | Q2 | 1,7 x 10 ³ | 7,3 x 10 ⁴ | 2,0 x 10 ⁵ | 2,0 x 10 ⁵ | 1,3 x 10 ⁵ | 1,5 x 10 ⁵ | |
| | Q3 | 5,5 x 10 ² | 9,0 x 10 ³ | 3,6 x 10 ⁴ | 1,1 x 10 ⁵ | 5,4 x 10 ⁴ | 1,5 x 10 ⁵ | |
| | Q4 | 6,4 x 10 ² | 2,7 x 10 ⁴ | 1,2 x 10 ⁵ | 1,8 x 10 ⁵ | 1,7 x 10 ⁴ | 9,0 x 10 ⁴ | |
| Queso después de salado | Q1 | 3,6 x 10 ² | 2,0 x 10 ⁵ | 1,0 x 10 ⁶ | 1,5 x 10 ⁶ | 9,0 x 10 ⁵ | 1,3 x 10 ⁶ | |
| | Q2 | 2,2 x 10 ² | 1,8 x 10 ⁵ | 1,4 x 10 ⁶ | 6,4 x 10 ⁵ | 2,8 x 10 ⁶ | 2,3 x 10 ⁶ | |
| | Q3 | 7,3 x 10 ² | 1,1 x 10 ⁵ | 1,5 x 10 ⁶ | 6,4 x 10 ⁵ | 1,4 x 10 ⁶ | 1,5 x 10 ⁶ | |
| | Q4 | 9,1 x 10 ² | 8,1 x 10 ⁵ | 1,4 x 10 ⁶ | 9,0 x 10 ⁵ | 1,6 x 10 ⁶ | 2,4 x 10 ⁶ | |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Tabla 34-3: Valores promedio de los resultados de *E. coli* en quesos antes y después del proceso de salado.

| MICROORGANISMO | | | <i>E. coli</i> (UFC/g) | | | | | | | | | |
|---------------------------|-----------------------|--------|------------------------|--------|-----------------------|--------|-----------------------|--------|-----------------------|--------|-----------------------|--------|
| DÍAS | 1 | | 3 | | 5 | | 7 | | 9 | | 11 | |
| | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) |
| QUESOS ANTES DEL SALADO | 1,2 x 10 ³ | 58,6 | 9,2 x 10 ⁴ | 125 | 1,5 x 10 ⁵ | 60,6 | 1,5 x 10 ⁵ | 33,8 | 8,8 x 10 ⁴ | 71,5 | 1,6 x 10 ⁵ | 37,1 |
| QUESOS DESPUÉS DEL SALADO | 5,6 x 10 ² | 57,6 | 3,3 x 10 ⁵ | 100 | 9,9 x 10 ⁵ | 59,7 | 9,2 x 10 ⁵ | 44,1 | 1,7 x 10 ⁶ | 48,1 | 1,9 x 10 ⁶ | 29,7 |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

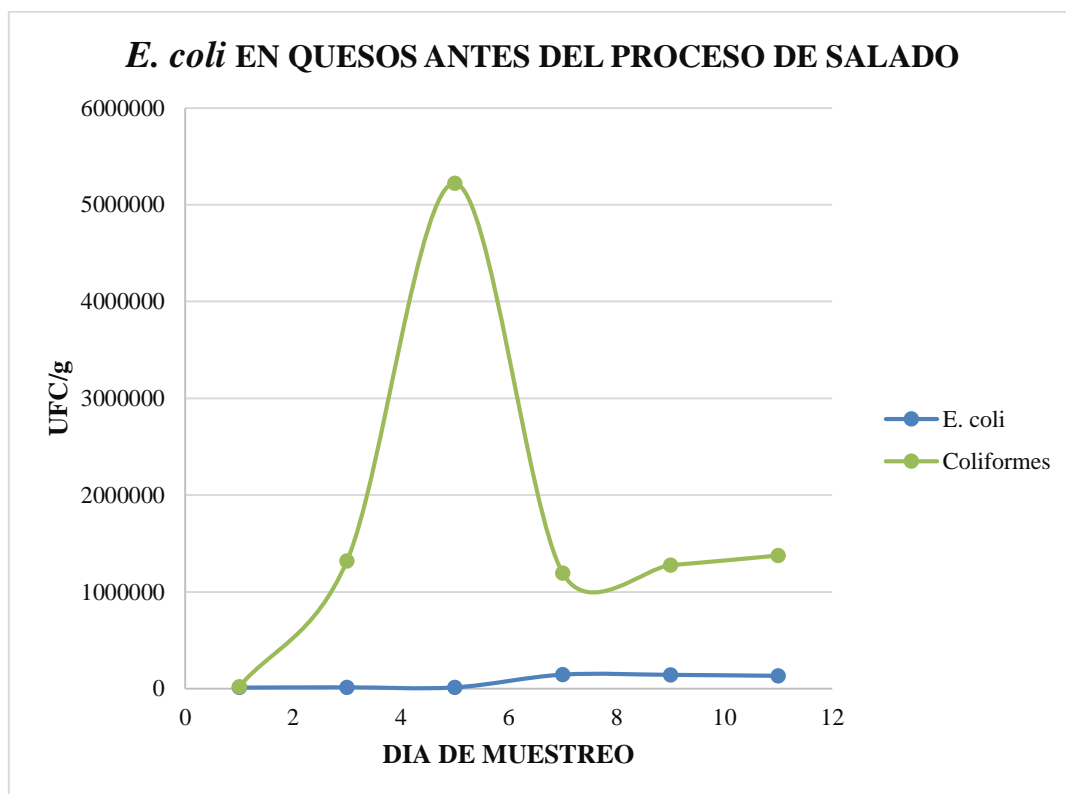


Gráfico 18-3: Valores promedio de los resultados de *E. coli* en quesos antes del proceso de salado.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

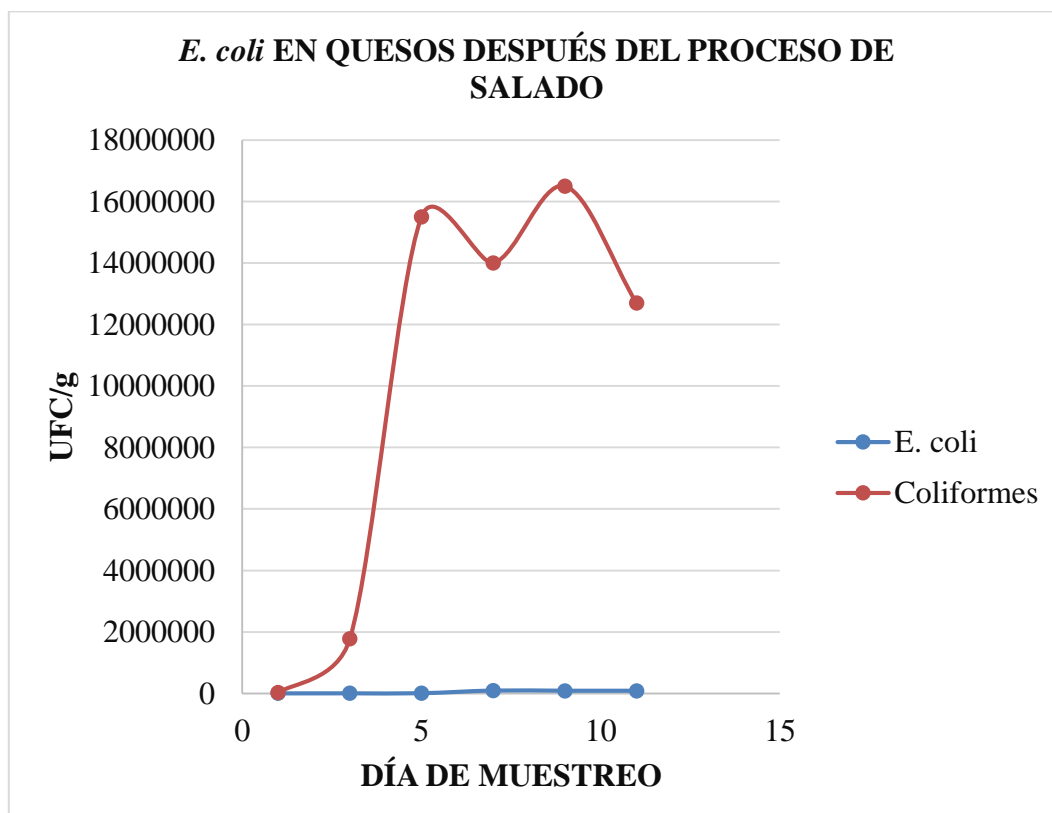


Gráfico 19-3: Valores promedio de los resultados de *E. coli* en quesos después del proceso de salado.

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Tabla 35-3: Resultados de Coliformes en muestras de queso.

| MICROORGANISMO | | Coliformes (UFC/g) | | | | | | |
|-------------------------|----|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| MUESTRA | | DIA DE MUESTREO | | | | | | MAX NTE INEN 1528 |
| | | 1 | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 | |
| Queso antes de salado | Q1 | 2,3 x 10 ⁴ | 1,5 x 10 ⁶ | 1,7 x 10 ⁶ | 1,6 x 10 ⁶ | 1,3 x 10 ⁶ | 1,4 x 10 ⁶ | Máximo permisible 10 |
| | Q2 | 2,2 x 10 ⁴ | 1,6 x 10 ⁶ | 1,7 x 10 ⁷ | 1,2 x 10 ⁶ | 1,3 x 10 ⁶ | 1,5 x 10 ⁶ | |
| | Q3 | 1,9 x 10 ⁴ | 1,2 x 10 ⁶ | 9,9 x 10 ⁵ | 7,8 x 10 ⁵ | 1,0 x 10 ⁶ | 1,2 x 10 ⁶ | |
| | Q4 | 1,7 x 10 ⁴ | 9,8 x 10 ⁵ | 1,2 x 10 ⁶ | 1,2 x 10 ⁶ | 1,5 x 10 ⁶ | 1,4 x 10 ⁶ | |
| Queso después de salado | Q1 | 2,7 x 10 ⁴ | 2,4 x 10 ⁶ | 1,9 x 10 ⁷ | 1,9 x 10 ⁷ | 2,2 x 10 ⁷ | 1,8 x 10 ⁷ | |
| | Q2 | 2,4 x 10 ⁴ | 1,5 x 10 ⁶ | 1,3 x 10 ⁷ | 1,6 x 10 ⁷ | 1,7 x 10 ⁷ | 1,6 x 10 ⁷ | |
| | Q3 | 2,0 x 10 ⁴ | 1,6 x 10 ⁶ | 1,4 x 10 ⁷ | 1,0 x 10 ⁷ | 1,3 x 10 ⁷ | 1,5 x 10 ⁷ | |
| | Q4 | 2,1 x 10 ⁴ | 1,6 x 10 ⁶ | 1,6 x 10 ⁷ | 1,1 x 10 ⁷ | 1,4 x 10 ⁷ | 1,8 x 10 ⁶ | |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Tabla 36-3: Valores promedio de los resultados de coliformes en quesos antes y después del proceso de salado.

| MICROORGANISMO | | | Coliformes (UFC/g) | | | | | | | | | |
|---------------------------|-----------------------|--------|-----------------------|--------|-----------------------|--------|-----------------------|--------|-----------------------|--------|-----------------------|--------|
| DÍAS | 1 | | 3 | | 5 | | 7 | | 9 | | 11 | |
| | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) |
| QUESOS ANTES DEL SALADO | 2,0 x 10 ⁴ | 13,6 | 1,3 x 10 ⁶ | 21,5 | 5,2 x 10 ⁶ | 150 | 1,2 x 10 ⁶ | 28,0 | 1,3 x 10 ⁶ | 16,2 | 1,4 x 10 ⁶ | 9,2 |
| QUESOS DESPUÉS DEL SALADO | 2,3 x 10 ⁴ | 13,7 | 1,8 x 10 ⁶ | 23,6 | 1,6 x 10 ⁷ | 17,1 | 1,4 x 10 ⁷ | 30,3 | 1,7 x 10 ⁷ | 24,5 | 1,3 x 10 ⁷ | 58,1 |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

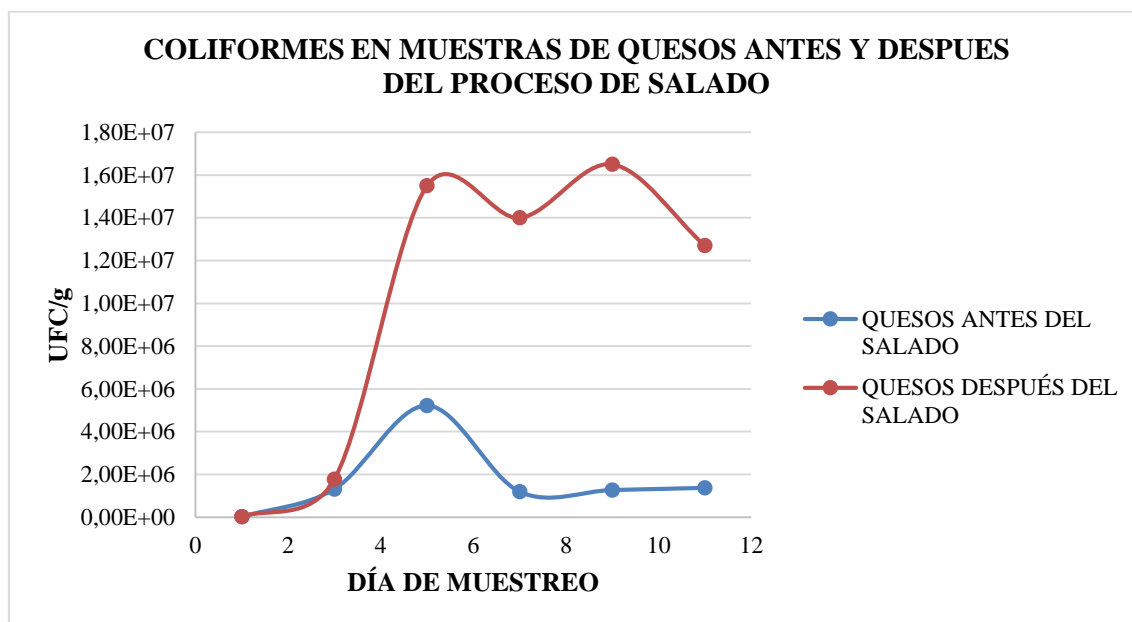


Gráfico 20-3: Valores promedio de los resultados de coliformes en quesos antes y después del proceso de salado.

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Como se resume en las Tablas 31-3, 33-3, 35-3 y se observa en el Gráfico 18-3, 19-3 y 20-3, ninguno de los 64 quesos analizados pudieron aprobar las especificaciones de la Normativa NTE INEN 1528:2012; ya que la presencia y crecimiento de éstos microorganismos: enterobacterias, *E. coli* y coliformes, depende de varios factores por ejemplo: condiciones higiénicas en las que se dan los procesos, limpieza previa a las instalaciones internas por parte de los operarios, y condiciones sanitarias de los utensilios, equipos y maquinarias que esté en contacto directo con la materia prima a ser utilizada (Cervantes, Chalte y Tapia 2008, pp.12-19).

Estos microorganismos pueden ser eliminados mediante tratamientos térmicos, pero no se puede asegurar que dicho proceso se lleve a cabo por los consumidores, debido a que es obligación de la empresa expender productos inocuos que no representen un peligro para la salud del ser humano. Tomando en cuenta los factores antes mencionados, la contaminación tiene lugar desde la selección y utilización de la materia prima hasta el expendio del producto final, porque no se llevan a cabo Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) ni las Prácticas Correctas de Higiene (PCH) que permiten que los riesgos y puntos críticos sean detectados para ser solucionados y mejorados (DIGESA-MINSA, 2017, pp.12-17).

Cabe recalcar que en el caso de la carga microbiana de *E. coli* y coliformes, fue mucho más

elevada en los quesos después de su inmersión en salmuera desde el día 1, lo que quiere decir que desde el día de la preparación de la solución saturada, ésta no fue apta debido a que ya se convirtió en un contaminante de los productos en proceso (queso) que pasen por ella. Lo contrario ocurrió con las enterobacterias, ya que después del proceso de salado, los quesos presentaron una carga microbiana menor a la que tenían antes de la salmuerización, esto sucede debido a que son microorganismos que no toleran altas concentraciones de sal, provocando su eliminación; ya que el cambio brusco de su entorno no se considera viable para su desarrollo (Puerta-García y Rodríguez-Mateos; 2010; Gómez Gómez et al. 2014)

3.2.3.4 Mohos y levaduras

Tabla 37-3: Resultados de Mohos y levaduras en muestras de sal y agua.

| MICROORGANISMO | | Mohos y levaduras (UFC/cm ³ - UFC/g) | | |
|----------------|--------------|---|-----------------------|---------------------|
| MUESTRA | | DÍA DE MUESTREO | | Min – Max Normativa |
| | | 0 | | |
| | | Mohos | Levaduras | |
| Sal | Nueva | 2,7 x 10 ¹ | 3,6 x 10 ¹ | N/E |
| | Usada | 5,4 x 10 ¹ | 8,2 x 10 ¹ | |
| Agua | Pasteurizada | 0 | 0 | N/E |
| | Reposo | 0 | 0 | |

N/E: No Encontrado.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Tabla 38-3: Resultados de mohos en muestras de salmuera.

| MICROORGANISMO | | Mohos (UFC/cm ³) | | | | | | | | |
|----------------|---------------|------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|
| MUESTRA | | DIA DE MUESTREO | | | | | | | | Min – Max |
| | | 0 | 1 | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 | 12 | |
| Salmuera | Tina superior | < 10 | < 10 | 9,0 x 10 ² | < 10 | 8,2 x 10 ⁴ | 1,0 x 10 ⁴ | 5,5 x 10 ⁴ | 1,5 x 10 ⁵ | N/E |
| | Tina inferior | < 10 | 8,1 x 10 ² | 1,8 x 10 ⁴ | 4,5 x 10 ⁴ | 7,3 x 10 ⁴ | 1,0 x 10 ⁵ | 1,5 x 10 ⁴ | 1,3 x 10 ⁵ | |

N/E: No Encontrado.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Tabla 39-3: Resultados de levaduras en muestras de salmuera.

| MICROORGANISMO | | Levaduras (UFC/cm ³) | | | | | | | | |
|----------------|---------------|----------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|
| MUESTRA | | DIA DE MUESTREO | | | | | | | | Min – Max |
| | | 0 | 1 | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 | 12 | |
| Salmuera | Tina superior | 1,9 x 10 ³ | 3,3 x 10 ³ | 4,5 x 10 ³ | 2,3 x 10 ⁴ | 4,9 x 10 ⁵ | 6,5 x 10 ⁵ | 8,2 x 10 ⁵ | 1,3 x 10 ⁶ | N/E |
| | Tina inferior | 4,3 x 10 ³ | 7,5 x 10 ⁴ | 1,0 x 10 ⁴ | 3,7 x 10 ⁵ | 5,4 x 10 ⁵ | 6,5 x 10 ⁵ | 7,8 x 10 ⁵ | 1,3 x 10 ⁶ | |

N/E: No Encontrado.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Tabla 40-3: Valores promedios de resultados de mohos y levaduras en muestras de salmuera.

| MICROORGANISMO | Mohos y levaduras (UFCcm ³) | | | |
|---------------------------|---|-----------------------|--------|-----------|
| MUESTRA | PROMEDIO | | CV (%) | |
| | Mohos | Levaduras | Mohos | Levaduras |
| TINA SUPERIOR DE SALMUERA | 3,7 x 10 ⁴ | 4,1 x 10 ⁵ | 148 | 119 |
| TINA INFERIOR DE SALMUERA | 4,8 x 10 ⁴ | 4,7 x 10 ⁵ | 102 | 96,5 |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.



Gráfico 21-3: Valores promedios de resultados de mohos y levaduras en muestras de salmuera

de la tina superior.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

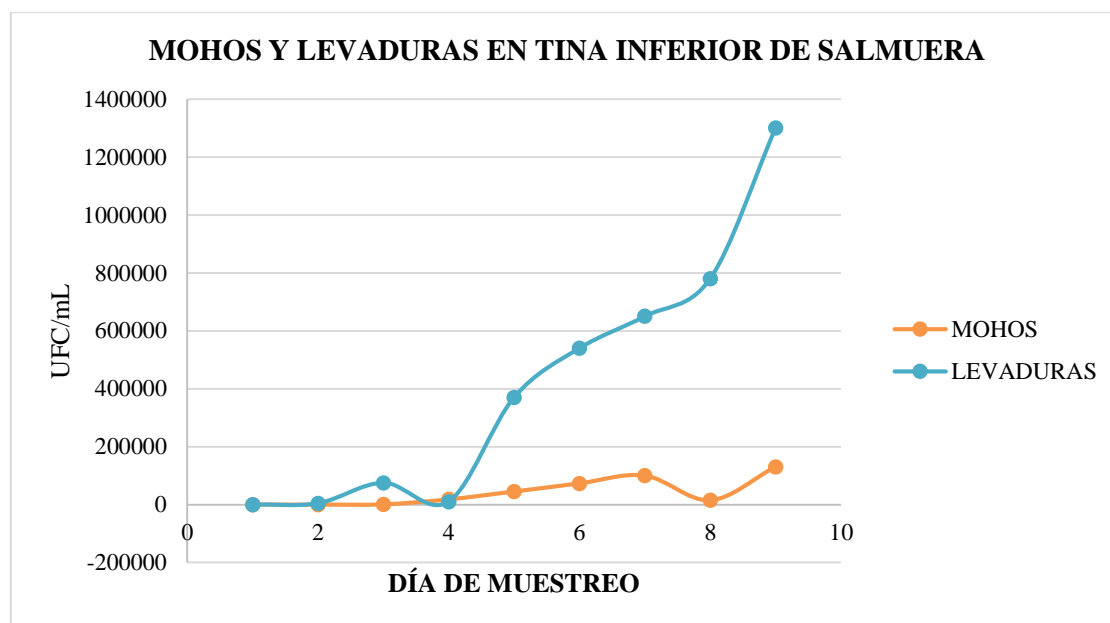


Gráfico 22-3: Valores promedios de resultados de mohos y levaduras en muestras de salmuera de la tina inferior.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

En la Tabla 37-3, se puede observar que, el agua pasteurizada y en reposo, no presentó crecimiento de mohos y levaduras; en cambio la sal tanto nueva y usada si lo hizo, ya que son considerados como microorganismos halotolerantes, condición que les permite proliferar en el medio salino donde se han asentado (Universidad de Salamanca, 2012, p.5).

La presencia de éstos microorganismos no se debe tomar a la ligera ya que en un estudio realizado en Estados Unidos de la sal comercializada para condimentar alimentos y como materia prima para procesos de curado, descubrieron que el cloruro de sodio no es estéril como se solía pensar, si no que presentó más de 80 tipo de hongos entre los cuales se encuentran los de carácter patógeno por las micotoxinas que producen (Olaizola, 2017, p.8).

A su vez, las muestras de salmuera en ambas tinas cuyos datos se encuentran detallados en las Tablas 38-3, 39-3 y 40-3 presentaron crecimiento que iba aumentando a través del tiempo; porque el pH de la salmuera rondaba la neutralidad, siendo así que era el ideal para que puedan proliferar en ella; cabe destacar que en ambos casos las levaduras que se encontraron en mayor cantidad que los mohos, ya que éstas tienen mayor capacidad de subsistir a las condiciones adversas del ambiente donde se encuentran (Zamorano, 2002; Medina et al. 2014).

Tabla 41-3: Resultados de mohos en muestras de queso.

| MICROORGA NISMO | | Mohos (UFC/g) | | | | | | |
|-------------------------------|----|-----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|
| MUESTRA | | DÍA DE MUESTREO | | | | | | MAX COVENIN* 3821 |
| | | 1 | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 | |
| Queso antes de salado | Q1 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | 1 x 10 ³ |
| | Q2 | < 10 | 9,0 x 10 ¹ | < 10 | < 10 | 8,1 x 10 ¹ | < 10 | |
| | Q3 | < 10 | < 10 | < 10 | 5,5 x 10 ¹ | < 10 | < 10 | |
| | Q4 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | |
| Queso después de salado | Q1 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | 2,7 x 10 ¹ | |
| | Q2 | < 10 | < 10 | < 10 | 3,6 x 10 ¹ | < 10 | < 10 | |
| | Q3 | < 10 | < 10 | 2,7 x 10 ¹ | < 10 | < 10 | < 10 | |
| | Q4 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | < 10 | |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

*: Comisión Venezolana de Normas Industriales.

Tabla 42-3: Valores promedio de los resultados de mohos en muestras de queso antes y después del proceso de salado.

| MICROORGANISMO | | | Mohos (UFC/g) | | | | | | | | | |
|------------------------------------|-----------------------------|--------|-----------------------------|-----------|-----------------------------|--------|-----------------------------|-----------|-----------------------------|-----------|-----------------------------|--------|
| DÍAS | 1 | | 3 | | 5 | | 7 | | 9 | | 11 | |
| | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) |
| QUESOS ANTES DEL SALADO | 1,0 x 10 ¹ | 0 | 3,0 x 10 ¹ | 133, 3 | 1,0 x 10 ¹ | 0 | 2,1 x 10 ¹ | 105, 9 | 2,8 x 10 ¹ | 127, 9 | 1,0 x 10 ¹ | 0 |
| QUESOS DESPUÉS DEL SALADO | 1,0 x 10 ¹ | 0 | 1,0 x 10 ¹ | 0 | 1,4 x 10 ¹ | 59,6 | 1,7 x 10 ¹ | 78,8 | 1,0 x 10 ¹ | 0 | 1,4 x 10 ¹ | 59,6 |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

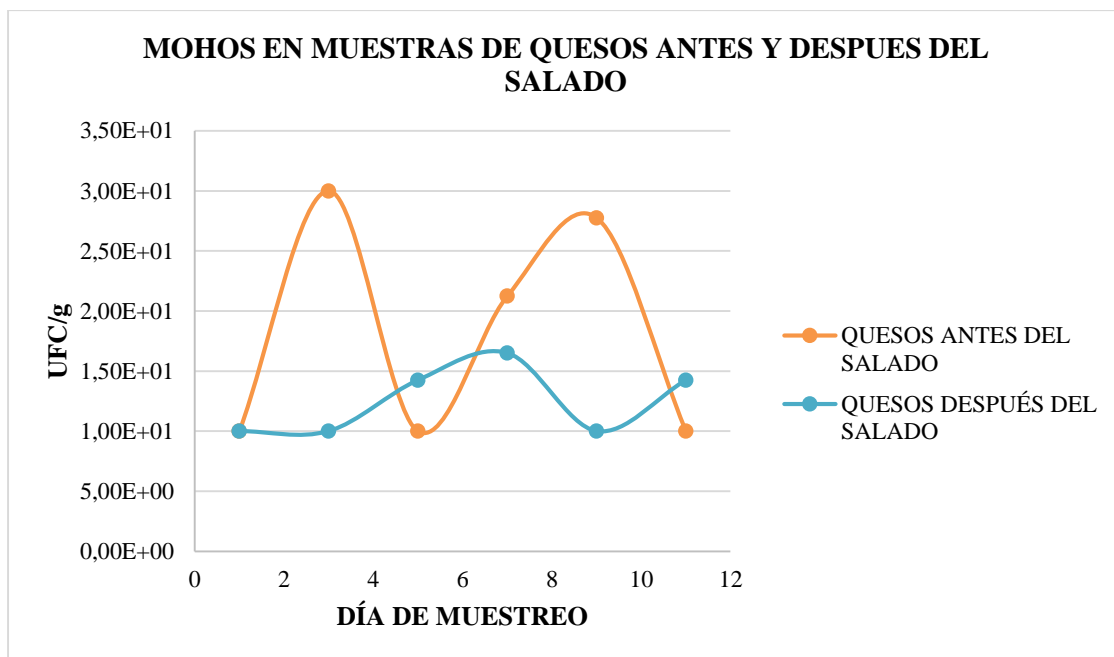


Gráfico 23-3: Valores promedio de los resultados de mohos en muestras de queso antes y después del proceso de salado.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

Tabla 43-3: Resultados de levaduras en muestras de queso.

| MICROORGANISMO | | Levaduras (UFC/g) | | | | | | |
|-------------------------|----|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|
| MUESTRA | | DIA DE MUESTREO | | | | | | MIN – MAX COVENI N* 3821 |
| | | 1 | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 | |
| Queso antes de salado | Q1 | $3,9 \times 10^2$ | $4,5 \times 10^2$ | $2,7 \times 10^2$ | $2,5 \times 10^1$ | $8,1 \times 10^1$ | $1,2 \times 10^1$ | 1×10^3 |
| | Q2 | $2,7 \times 10^1$ | $1,4 \times 10^2$ | $8,1 \times 10^1$ | $3,3 \times 10^2$ | $3,6 \times 10^1$ | $3,7 \times 10^2$ | |
| | Q3 | $6,4 \times 10^1$ | $4,4 \times 10^4$ | $7,3 \times 10^1$ | $4,5 \times 10^2$ | $2,6 \times 10^1$ | $1,5 \times 10^2$ | |
| | Q4 | $3,6 \times 10^2$ | $1,1 \times 10^2$ | $8,2 \times 10^2$ | $4,7 \times 10^2$ | $1,1 \times 10^2$ | $1,2 \times 10^2$ | |
| Queso después de salado | Q1 | $2,9 \times 10^2$ | $1,1 \times 10^2$ | $3,5 \times 10^2$ | $4,5 \times 10^2$ | $5,2 \times 10^2$ | $8,3 \times 10^2$ | |
| | Q2 | $1,8 \times 10^4$ | $4,1 \times 10^2$ | $5,0 \times 10^2$ | $2,8 \times 10^2$ | $8,1 \times 10^2$ | $1,1 \times 10^2$ | |
| | Q3 | $2,9 \times 10^2$ | $9,1 \times 10^2$ | $1,6 \times 10^2$ | $2,0 \times 10^2$ | $2,6 \times 10^2$ | $1,5 \times 10^2$ | |
| | Q4 | $1,6 \times 10^2$ | $2,4 \times 10^2$ | $1,7 \times 10^2$ | $1,2 \times 10^2$ | $1,9 \times 10^2$ | $3,4 \times 10^2$ | |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

*: Comisión Venezolana de Normas Industriales.

Tabla 44-3: Valores promedio de los resultados de levaduras en muestras de queso antes y

después del proceso de salado.

| MICROORGANISMO | | | Levaduras (UFC/g) | | | | | | | | | |
|---------------------------|-----------------------------|--------|-----------------------------|--------|-----------------------------|--------|-----------------------------|--------|-----------------------------|--------|-----------------------------|--------|
| DÍAS | 1 | | 3 | | 5 | | 7 | | 9 | | 11 | |
| | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) | PROMEDIO | CV (%) |
| QUESOS ANTES DEL SALADO | 2,1 x 10 ² | 91,0 | 1,1 x 10 ⁴ | 196 | 3,1 x 10 ² | 113 | 3,2 x 10 ² | 64,4 | 6,3 x 10 ¹ | 62,1 | 1,6 x 10 ² | 92,1 |
| QUESOS DESPUÉS DEL SALADO | 4,7 x 10 ³ | 189 | 4,2 x 10 ² | 84,0 | 2,9 x 10 ² | 55,0 | 2,6 x 10 ² | 53,7 | 4,5 x 10 ² | 63,3 | 3,6 x 10 ² | 92,5 |

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

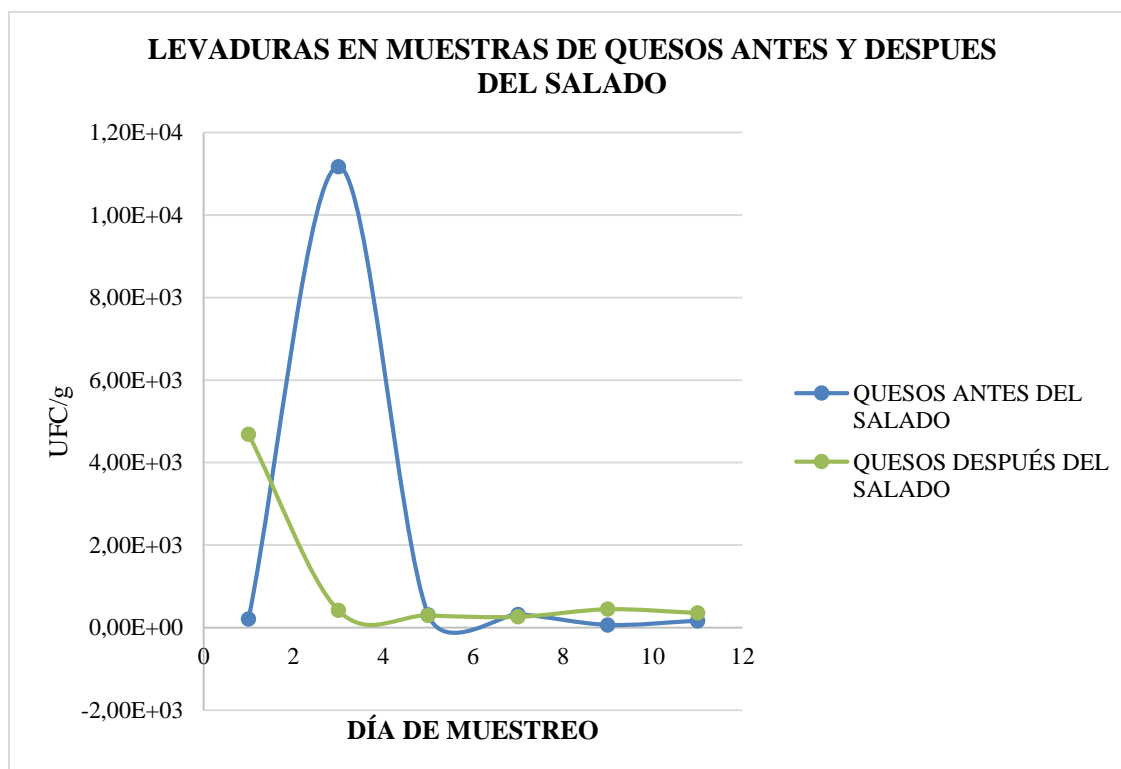


Gráfico 24-3: Valores promedio de los resultados de levaduras en muestras de queso antes y después del proceso de salado.

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

En las Tablas 41-3 y 43-3; se detallan los resultados obtenidos de mohos y levaduras de las muestras de quesos, donde todos cumplieron con la Normativa Venezolana COVENIN 3821:2003, ya que en la NTE INEN no se establecen valores permitidos. Ésta norma detalla los límites aceptados de los microorganismos antes mencionados para asegurar la inocuidad del producto con respecto a ellos (FONDONORMA, 2003, p.8).

La carga microbiana con respecto a los microorganismos antes mencionados, no sigue un patrón fijo, ya que al ser halotolerantes, su presencia en el producto final va a depender de su concentración en la solución, del lactosuero que exude el queso y de cuán diluida se encuentre la salmuera.

La carente proliferación o crecimiento de tanto mohos como levaduras en los quesos con respecto a otros tipos de carga microbiana, puede justificarse ya que se consideran como microorganismos con poca actividad competitiva, es decir, cuando la concentración de bacterias de cualquier naturaleza invaden un alimento en los que los mohos o levaduras pueden crecer, éstos no van a hacerlo si hay crecimiento bacteriano exponencial (Medina et al. 2014, pp.5-8).

3.2.3.5 *Salmonella*

Tabla 45-3: Resultado de *Salmonella* en quesos.

| MICROORGANISMO | <i>Salmonella</i> | | Normativa |
|------------------------|-------------------------------------|------------------|--------------------------|
| DÍA DE MUESTREO | <i>MUESTRA</i> | RESULTADO | NTE INEN 1528 |
| 1 | Queso antes del proceso de salado | Ausencia | AUSENCIA |
| | Queso después del proceso de salado | Ausencia | |
| 3 | Queso antes del proceso de salado | Ausencia | |
| | Queso después del proceso de salado | Ausencia | |
| 5 | Queso antes del proceso de salado | Ausencia | |
| | Queso después del proceso de salado | Ausencia | |
| 7 | Queso antes del proceso de salado | Ausencia | |
| | Queso después del proceso de salado | Ausencia | |
| 9 | Queso antes del proceso de salado | Ausencia | |
| | Queso después del proceso de salado | Ausencia | |
| 11 | Queso antes del proceso de salado | Ausencia | |

| | | | |
|--|-------------------------------------|----------|--|
| | Queso después del proceso de salado | Ausencia | |
|--|-------------------------------------|----------|--|

Elaborado por: Kimberly León, 2018.

En la Tabla 45-3 se puede observar que todas las determinaciones de *Salmonella* en quesos a través del tiempo dieron un resultado negativo. La realización de ésta prueba a nivel industrial o artesanal, es de vital importancia ya que si se detectara presencia, ninguno de los quesos podría ser consumido porque se consideran como un peligro para la salud humana ya que producen las denominadas Salmonelosis, caracterizadas por diarreas frecuentes, fiebre, deshidratación severa; si bien la mayoría de casos se consideran leves, si no es tratado a tiempo y adecuadamente puede producir la muerte (Sémper, 2008, pp.1-5).

En el país, el reporte de ETA, que tienen como origen la *Salmonella*, no se lo realiza de manera rigurosa, por lo que la Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica no conoce el número de casos reales anuales, sin embargo Freire y Castillo (2015, p.14), mencionan que en el año de 2010 se reportaron alrededor de 30 casos por ingesta de alimentos contaminados en una escuela; en el 2014, más de 100 casos en personas entre los 19 y 50 años y en el 2015, más de 20 casos en zonas rurales de la Costa Ecuatoriana.

Los escasos hábitos de higiene por parte de los manipuladores y de la ejecución de los procesos de manera general en la quesera, son la razón principal para que pueda haber gran riesgo de contaminación de los productos elaborados.

3.2.3.6 Análisis complementarios de salmuera

Medición espectrofotométrica

Tabla 46-3: Resultados de la medición en el espectrofotómetro muestras de salmuera.

| SALMUERA | | |
|--------------|------------------|---------------|
| DIA-MUESTREO | ESPECTOFOTOMETRO | |
| | ABSORBANCIA | TRANSMITANCIA |
| 0 | 1,870 | 01,3% |
| 1 | 1,657 | 02,2% |
| 3 | 1,162 | 06,8% |
| 5 | 0,570 | 26,9% |
| 7 | 0,288 | 51,5% |

| | | |
|-----------|-------|-------|
| 9 | 0,546 | 28,5% |
| 11 | 0,396 | 40,1% |
| 12 | 0,310 | 49,0% |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Al observar los datos obtenidos de la Tabla 46-3, se resumen los datos obtenidos de la medición espectrofotométrica de salmuera cada día de muestreo desde el día de su preparación, los resultados obtenidos en el día cero tiene mayor absorbancia que los demás se deduce que es por el hecho que no se han sumergido ningún producto; se puede visualizar la disminución de la absorbancia del día 5 al día 7, y vuelve a aumentar el día 9, esto puede suceder debido a que el operario consideró agregar agua en la tina para que recupere el volumen que tenía inicialmente en conjunto con sal para que no se pierda esa característica de ser una solución saturada.

Aunque el uso del espectrofotómetro se lo puede hacer para conocer la carga microbiana que tiene una solución a una longitud de onda de 600 nm, no siempre puede dictaminar datos fiables, ya que también dependerá de los sólidos disueltos que se encuentren en ella y no solamente de la turbidez de los microorganismos (Arenas y López 2004; Lezama 2010). Aunque es recomendado efectuar las mediciones en muestras filtradas, en éste caso no fue posible porque se deseaban analizar las condiciones reales de la salmuera utilizada en la quesera.

Es preciso mencionar que, aunque no se pueda conocer si los valores de su absorbancia son directamente relacionados a los microorganismos, sí se puede inferir que esas lecturas pueden darse debido a los sólidos restantes de los quesos que se quedan en ella, las natillas y los restos del material utilizado para la elaboración de los quesos que se quedan suspendidos en la solución.

Medición de la conductividad eléctrica

Tabla 47-3: Resultados de la conductividad eléctrica de las muestras de salmuera.

| DIA- MUESTREO | µS/cm | RANGO DE SALINIDAD mg/L | RESULTADOS TDS ppm | % TDS |
|--------------------------|--------------|--|-----------------------------------|------------------|
| 0 | 1678 | 1006,8 – 1174,6 | 1075,6 | 10,8 |
| 1 | 1638 | 982,8 – 1146,6 | 1050 | 11 |
| 3 | 1578 | 946,8 – 1104,6 | 1011,5 | 10,1 |
| 5 | 1582 | 949,2 – 1107,4 | 1014,1 | 10,1 |
| 7 | 1594 | 956,4 – 1115,8 | 1021,7 | 10,2 |

| | | | | |
|----|------|----------------|--------|------|
| 9 | 1583 | 949,8 – 1108,1 | 1014,7 | 10,1 |
| 11 | 1573 | 943,8 – 1101,1 | 1008,3 | 10,1 |
| 12 | 1591 | 954,6 – 1113,7 | 1019,8 | 10,2 |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Los rangos de la conductividad de la salmuera, no presentaron diferencias considerables de valores, a excepción del día 0 de su preparación, el cual al momento de realizar el cálculo para establecer el rango de salinidad, fue el más elevado, como se puede observar en la Tabla 47-3.

Se considera que para que una solución se considere saturada en el caso de la sal, debe contener 50 g por cada 100 mL de agua, donde su 28% no va a disolverse; el mismo principio puede ser aplicado a las tinajas de salmuera, ya que de 3,5 quintales mezclados con 80 L de agua; solamente 2,52 van a poder diluirse; concatenado a ello, a pesar de las condiciones antes mencionadas, al calcular el porcentaje TDS, bajo la suposición de que es cloruro de sodio y no otros elementos como Ca^{+2} , Mg^{+2} , Mn^{+2} , entre otros; todos los días de muestreo cumple con la mínima de concentración de sal que debe ser mayor a 10% (Haya, 2002; Jonson y Paulus, 2005; Reinheimer y Salazar, 2006; Flor, 2008; Hernández, 2009).

3.2.3.7 Tratamientos a la sal usada

Tabla 48-3: Resultados de tratamientos con cloro y calor a muestra de sal usada.

| MICROORGANIS MO | <i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g | | Aerobios UFC/g | | Mohos y levaduras UFC/g | | Enterobacterias UFC/g | |
|--------------------|---|-------|-------------------|-------|----------------------------|-------|--------------------------|-------|
| | NaClO | CALOR | NaClO | CALOR | NaClO | CALOR | NaClO | CALOR |
| | $7,3 \times 10^3$ | 0 | $1,6 \times 10^3$ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018.

Se analizó la calidad microbiológica de la sal usada que era empleada nuevamente para la preparación de nueva salmuera, después someterla a cloro y a un tratamiento térmico. Como se puede comparar en la Tabla 48-3, el uso de cloro fue efectivo para enterobacterias, mohos y levaduras; mientras que llevarla a ebullición por 5 minutos a una temperatura de 98 °C eliminó toda la carga microbiana.

El tratamiento térmico de las salmueras es muy utilizado en la industria alimentaria porque

prolonga su tiempo de vida pero, en éste caso, aplicado a la sal de manera exclusiva, para la quesera artesanal no le resultaría un método práctico, ya que existiría la pérdida de materia prima y tampoco se cuenta con todo el equipo necesario para ejecutarla. Aunque en comparación con los beneficios obtenidos en la calidad final de los quesos, podría analizarse su potencial aplicación (Hernández, 2009; Pontín, Barraza y Bruschi 2017).

CONCLUSIONES

- Al no existir una norma que establezca límites mínimos y/o máximos microbiológicos o haya un proceso de salmuerización estandarizado, las queseras artesanales no siguen un sistema operacional igual todos los días de su producción, lo cual convierte el proceso de salación en un foco importante de contaminación y un punto crítico para su calidad microbiológica, además de no permitir correlacionar el comportamiento de los diversos microorganismos en el medio en el que se encuentran.
- Al medir el ATP de las superficies inertes y vivas, se obtuvieron valores de Unidades Relativas de Luz (RLU) por encima de lo especificado para que el análisis pueda considerarse satisfactorio, pues el Luminómetro Hygiena EnSURE™ Monitoring System tiene establecido en su ficha técnica que los valores no deben sobrepasar 10 RLU. En el caso de las superficies inertes, la cernidera fue el utensilio que presentó el valor más alto de todos, con más de 8000 RLU; mientras que en el muestreo de las superficies vivas, unos de los trabajadores presentó más de 7000 RLU a nivel de los intersticios de los dedos de la mano. Demostrándose que la limpieza personal y de las instalaciones era deficiente y no apta para los procesos de recepción y elaboración de derivados lácteos.
- El conteo de los microorganismos indicadores de la calidad: aerobios mesófilos, mohos y levaduras, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, enterobacterias y coliformes, analizados en las tinas de salmuera superior e inferior mostraron valores muy elevados, que se incrementaron en el transcurso de los días; si bien no se contó con una norma nacional como referencia para su comparación, al analizar su contexto, se puede inferir que ésta carga microbiana se debe al uso de materia prima contaminada, malas prácticas higiénico-sanitarias por parte de los manipuladores, procesos de limpieza ineficientes y falta de control del uso de equipo de protección personal de los operarios.
- Los 64 quesos analizados presentaron valores de UFC/g de producto por encima de lo establecido en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1528:2012 para enterobacterias, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y aerobios mesófilos, por lo que se determinó que no son aptos para el consumo humano. No se detectó la presencia de *Salmonella*; mientras que los resultados del conteo de mohos y levaduras cumplen con lo establecido por la Norma Venezolana CONVENIN 3821:2003.

RECOMENDACIONES

- Capacitar al personal en Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y Prácticas Correctas de Higiene (PCH) para que puedan mejorar su desempeño operacional y aplicar lo relacionado a actividades de limpieza previa a la producción.
- Socializar las bondades de la realización de los análisis microbiológicos en la quesera estudiada, para que se evalúe su factibilidad de implementación que promueva el mejoramiento del proceso de producción.
- Para la preparación de salmuera, no trasladar las lonas de sal desde la zona de almacenamiento hasta el área de producción donde van a ser mezcladas con agua, en su lugar, transferir el contenido en un contenedor limpio y desinfectado mientras se transporta hasta las tinas de salmuera.
- Continuar con el estudio microbiológico de sal usada para proponer un método eficaz para eliminar su carga microbiana, de modo que no signifique pérdida para las diferentes queseras artesanales.
- Investigar acerca de la aplicación de tratamientos térmicos a la sal residual que será reutilizada, a fin de disminuir la carga microbiana inicial y prolongar su tiempo de vida útil evitando su potencial como foco infeccioso de la quesera.
- En base al análisis microbiológico realizado de las muestras de materia prima (agua y sal), salmuera y producto en proceso (queso), se recomienda la elaboración y ejecución de un manual que involucre todos los procesos a realizarse en el área de producción; poniendo especial énfasis a la preparación de salmuera así como el proceso de salado en general de los quesos para relacionar los resultados obtenidos con una ejecución de actividades constante que permita establecer conclusiones fiables.

BIBLIOGRAFÍA

Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica. *Análisis Microbiológico De Los Alimentos Microorganismos Indicadores* [en línea]. Córdoba: Passalacqua Nancy, 2014. [Consulta: 9 enero 2019]. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_iii.pdf.

ADOX. *Fundamentos de la Luminometría.* [en línea]. Argentina: Rodríguez Manuel, 2010. [Consulta: 31 julio 2018]. Disponible en: <http://www.adox-sa.com.ar/docs/articulos/luminometria.pdf>.

Agencia Ecuatoriana De Aseguramiento de la Calidad. *Instructivo para toma de muestras de leche cruda* [en línea]. Ecuador: 2015. [Consulta: 31 de julio del 2018]. Disponible en: <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/pdf/laboratorios/control-calidad-leche/instructivo-toma-de-muestra-leche-cruda-laboratorios-agrocalidad.pdf>.

Ahmed, M., y Nawal, S. “Cheese Yield As Affected By Some Parameters Review”. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment*, vol. 10, no. 2 (2000), (Egipto) pp. 131-153. ISSN 1889-9594.

Algorta, G. “*Bacilos gram negativos no exigentes enterobacteriaceae, vibronaceae, pseudomonas*”. [en línea]. Uruguay: Algorta Gabriela, 2014. [Consulta: 2 enero 2019]. Disponible en: <http://higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap 22.pdf>.

Arenas, I. y López, J. *Análisis microbiológico en la Industria Alimentaria.* [en línea]. México: Universidad Autónoma de Mexico. Instituto de Biotecnología Iván Arenas Sosa, 2004. [Consulta: 9 enero 2019]. Disponible en: http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/espectrometria_de_absorcion.pdf.

Bazán, E., Sánchez, E., Córdoba, E., Hernández, F., Manzano Patricia y López, R. “Hallazgo de *Candida albicans* en manos de manejadores de alimentos”. *Rev Mex Patol Clin* [en línea], 2001, (México). vol. 48, no. 1, pp. 5. [Consulta: 5 enero 2019]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2001/pt011f.pdf>.

Bejarano, J. y Fandiño, A. Investigación original caracterización de las condiciones higiénico sanitarias y microbiológicas de los puntos operativos del programa nacional de alimentación al adulto mayor PNAAM ICBF 2007. *Rev Fac Med* [en línea]. 2011, (Colombia) vol. 59, no. 4, pp.

308-318 [Consulta: 5 enero 2019]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfmun/v59n4/v59n4a03.pdf>.

Blanco, N. *Conductividad del Agua*. [en línea]. España: Blanco N, 2002. [Consulta: 9 enero 2019]. Disponible en: <https://www.experimentoscientificos.es/conductividad/conductividad-del-agua/>

Borrego, S. y Rodríguez, J. “Investigaciones Caracterización micológica del ambiente aéreo del depósito de los fondos bibliográficos del Museo Nacional de la Música”. [en línea], 2013, (Cuba) Vol.56, no. 21, pp. 48-60. [Consulta: 3 enero 2019]. Disponible en: <http://www.arnac.cu/wp-content/uploads/2014/07/Caracterización-micológica-del-ambiente.pdf>.

Calderón, G. Estudio de caso – Enfermedades Transmitidas por Alimentos en el Salvador. Consultor FAO, El Salvador: 2006. pp. 67-120.

Camacho, A., Giles, M., Palao, B., Serrano, O. y Ortegón, A. “Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli* por la técnica de diluciones en tubo múltiple (Número más Probable o NM)”. UNAM [en línea]. 2009, (México) [Consulta: 2 enero 2019]. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TecnicBasicas-Colif-tot-fecales-Ecoli-NMP_6529.pdf.

Centro de Investigación en Sanidad Animal (CRESA). *Salmonelosis*. [en línea], España: 2015.[Consulta: 2 enero 2019]. Disponible en: <http://www.cresa.es/granja/salmonelosis.pdf>.

Cervantes, L., Chalte, A. y Tapia, K. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs). [en línea], 2008, (España) vol.1, no.2, p. 46. Disponible en: http://163.247.80.241/intranet/normativas/Documentos_2012/IAAS/NIIH-024 Norma Manejo_Intoxicaciones_Alimentarias.pdf.

Contero, R. “La calidad de la leche: un desafío en el Ecuador”. *La granja* [en línea]. 2008, (Ecuador), vol.7, no.1, [Consulta: 18 diciembre 2018]. Disponible en: <https://lagranja.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/521>.

Deacon, A. *Staphylococcus aureus, el patógeno de los manipuladores* | EROSKI CONSUMER. [en línea]. España: 2012. [Consulta: 5 enero 2019]. Disponible en: <http://www.eroski.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2003/11/22/9514.php>.

Delgado, R.L.C. y Torres, D.J.M. “Bacteriological assessment of fresh artisan cheeses sold in Lima, Peru, and the presumed bactericidal action of *Lactobacillus spp*”. *Revista Panamericana de Salud Pública* [en línea], 2003, (Perú) vol. 14, no. 3, pp. 158-164. [Consulta: 10 enero 2019]. DOI 10.1590/S1020-49892003000800002. Disponible en: http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49892003000800002&lng=en&nrm=iso&tlng=en.

Departamento de Servicios Humanos de Oregon. “Health effects information coliform bacteria”. *Department of Human Services* [en línea]. 2002, (United States of América) [Consulta: 5 enero 2019]. Disponible en: <https://www.oregon.gov/oha/ph/HealthyEnvironments/DrinkingWater/Monitoring/Documents/health/colibact.pdf>.

DIGESA-MINSA. “Guía para elaborar un manual de buenas prácticas de manufactura (BPM) y programa de higiene y saneamiento (PHS) para pequeños productores de queso fresco”. [en línea]. 2017, (Perú) [Consulta: 6 enero 2019]. Disponible en: http://www.digesa.minsa.gob.pe/publicaciones/descargas/BPM_Y_PHS.pdf.

Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica. *Enfermedades transmitidas por agua y alimentos*. [en línea]. Ecuador: Granda Juan, 2014. [Consulta: 28 julio 2018]. Disponible en: <https://public.tableau.com/profile/vvicentee80#!/vizhome/ETAS-2014/ANUARIO>.

División de Salud Pública de Carolina del Norte. *Las Bacterias Coliformes*. [en línea]. United States of América: 2015. [Consulta: 2 enero 2019]. Disponible en: www.ncdhhs.gov/espanol.

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-121-SSA1-1994, *Bienes y servicios. quesos: frescos, madurados y procesados. especificaciones sanitarias*. [en línea]. México: Meljem José, 2005. [Consulta: 1 enero 2019]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/121ssa14.html>.

Figueroa, H. y Sánchez, T. *Microorganismos Indicadores*. [en línea]. México: 2007. [Consulta: 2 enero 2019]. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/2Indicadores_6422.pdf.

FONDONORMA. NORMA VENEZOLANA COVENIN 3821:2003 QUESO BLANCO [en

línea]. Venezuela: 2003. [Consulta: 6 enero 2019]. Disponible en: <https://docplayer.es/74145295-Norma-venezolana-covenin-3821-2003-queso-blanco.html>.

França, G. *Hongos y levaduras*. [en línea], Ecuador: 2007. p. 14. [Consulta: 2 enero 2019]. Disponible en: <https://ecobiouvm.files.wordpress.com/2014/02/hongosmohosylevadurass.pdf>.

Freire, L. y Castillo, S. *Salmonelosis en el Ecuador*. [Blog]. Ecuador: 2015. [Consulta: 6 enero 2019]. Disponible en: <http://bacteriasactuaciencia.blogspot.com/2015/06/salmonelosis-en-el-ecuador.html>.

Fuentes, S. y Moreno, E. “Evaluación de riesgos de *staphylococcus aureus* enterotoxigénico en alimentos preparados no industriales en Colombia” [en línea]. 2011, (Colombia), [Consulta: 2 enero 2019]. ISBN 9789581301546. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Er-staphylococcus.pdf>.

Gómez Gómez, J.M., Medina, J., Hochberg, D., Mateo-Martí, E., Martínez-Frías, J. y Rull, F. “Drying Bacterial Biosaline Patterns Capable of Vital Reanimation upon Rehydration: Novel Hibernating Biomineralogical Life Formations”. K [en línea], 2014, (United States of América) vol. 14, no. 7, pp. 589-602. [Consulta: 6 enero 2019]. DOI 10.1089/ast.2014.1162. Disponible en: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ast.2014.1162>.

El Comercio. *La industria láctea ecuatoriana se dinamizó este 2017*. [en línea]. Ecuador: González, P, 2017. [Consulta: 1 enero 2019]. Disponible en: <https://www.elcomercio.com/actualidad/industria-lactea-ecuador-ventas-produccion.html>.

Grosch, W. y Haiden-Britt, J. “Milk and Dairy Products”. *Food Chemistry* [en línea]. 2008, (Berlin), vol. 6, no.1, pp. 498-545. [Consulta: 31 diciembre 2018]. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-69934-7_11

Grupo de Alimentos de la Sociedad Española de Microbiología. *Normas microbiológicas por alimentos*. [en línea]. España: 2003. [Consulta: 6 enero 2019]. Disponible en: <http://veterinaria.unex.es/sem/normicin.htm>.

Guerrero, A. Estudio de la formación y eliminación del fouling, biofouling y biofilms en la industria láctea [en línea] (Tesis) (Doctorado) Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España. 2017. pp. 56-78 [Consulta: 4 enero 2019]. Disponible en:

<https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/458695/aegn1de1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

HANNA HINTS. *Control de Acidez de productos Lácteos*. [en línea]. Chile: 2016. [Consulta: 3 enero 2019]. Disponible en: <https://www.hannachile.com/blog/post/control-de-acidez-de-productos-lácteos>.

Hernández, A. Microbiología Industrial [en línea]. Costa Rica: Editorial universidad estatal a distancia, 2009. [Consulta: 2 enero 2019]. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=KFq4oEQQjdEC&pg=PA78&lpg=PA78&dq=microbiologia+salmuera&source=bl&ots=N-rPUEm10l&sig=CTKWhcRcL9VhQl4JawGB8NhqqLI&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwjYu97dp8_fAhUv01kKHVa-CpUQ6AEwEHoECAsQAQ#v=onepage&q=microbiologia+salmuera&f.

HYGIENA. *Sistema para la verificación de la limpieza*. [en línea]. United States of America: 2014. [Consulta: 2 agosto 2018]. Disponible en: www.higienda.com.

Instituto Ecuatoriano de Normalización. NTE INEN 1528: *Norma general para quesos frescos no madurados. Requisitos*. [en línea]. Ecuador: 2012. [Consulta: 21 diciembre 2018]. Disponible en: <https://ia801907.us.archive.org/11/items/ec.nte.1528.2012/ec.nte.1528.2012.pdf>.

Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, Encuesta de Producción Agropecuaria Continua ESPAC 2016. [en línea]. Pichincha, Ecuador: 2016.[Consulta: 18 diciembre 2018]. Disponible en: http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2016/Presentacion ESPAC 2016.pdf.

Instituto Nacional de Salud de Colombia. Evaluación de riesgos de *staphylococcus aureus* enterotoxigénico en alimentos preparados no industriales en Colombia [en línea]. 2011, (Colombia) [Consulta: 6 enero 2019]. ISBN 9789581301546. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Er-staphylococcus.pdf>.

Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. *Staphylococcus aureus*. [en línea]. España: 2012. [Consulta: 2 enero 2019]. Disponible en: http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas_de_agentes_biologicos/Fichas/Bacterias/Staphylococcus_aureus.pdf.

Jonson, M. y Paulus, K. *La Operación de Salado del Queso*. [en línea]. Argentina: Jonson Mark, 2005. [Consulta: 2 enero 2019]. Disponible en: <http://alimentos.web.unq.edu.ar/wp-content/uploads/sites/57/2016/03/Salado-de-quesos.pdf>.

Juliarena, P. y Gratton, R. Conservación de los alimentos. [en línea], Argentina: 2008. [Consulta: 2 enero 2019]. Disponible en: <http://www.exa.unicen.edu.ar/catedras/tecnoambiente/CAP03.pdf>.

Lasa, I., Pozo, J.L., Penadés, J. y Leiva, J. “Biofilms bacterianos e infección” *Gobierno de Navarra, Departamento de Salud* [en línea]. 2005, (España) vol. 28, no.2, pp. 2-4.. [Consulta: 4 enero 2019]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272005000300002.

Lezama, D. *Comportamiento y evaluación de las proteínas de la leche*. [en línea], Perú: 2010. pp. 1-21. Disponible en: <http://www.uap.edu.pe/intranet/fac/material/04/20102BT040104235040104011/20102BT04010423504010401118707.pdf>.

Marks, J. y Roberts, P. Bacterias Coliformes. [en línea]. United States of América: 2003. [Consulta: 2 enero 2019]. Disponible en: <http://www.ecosafeusa.com/documents/toxinprevention/EcoliDrinkingWater.pdf>.

Martínez, R. *El salado de los quesos*. [en línea]. Uruguay: Martínez Reynaldo, 2005. [Consulta: 3 enero 2019]. Disponible en: <https://www.portalechero.com/innovaportal/v/183/1/innova.front/el-salado-de-los-quesos.html?page=1>

Medina, Z., León-Montero, Y., Delmonte, M., Fernández, P., Silva-A, R.-A. y Salcedo, A. “Mohos y levaduras en queso artesanal semiduro expandido en la ciudad de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. *Scientific Journal from the Experimental Faculty of Sciences* [en línea]. 2014, (Venezuela) vol.22. no.4, [Consulta: 6 enero 2019]. Disponible en: <http://www.produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia/article/viewFile/19809/19754>.

Ministerio De Agricultura Ganadería Acuacultura Y Pesca y Agencia Ecuatoriana De Aseguramiento De La Calidad. *RESOLUCIÓN DAJ-2013461-0201.0213*. [en línea], Ecuador: 2013. pp. 1-123. [Consulta: 31 julio 2018]. Disponible en:

<http://www.agrocalidad.gob.ec/documentos/dia/Manual-de-Leche-DAJ-2013461-0201.0213.pdf>.

Ministerio de Salud del Perú. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. [en línea]. 2012, (Perú) [Consulta: 5 enero 2019]. Disponible en: http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/Proy_RM615-2003.pdf.

Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad. “Uso de cloruro cálcico (coadyuvante/aditivo) en quesos”. [en línea]. 2017, (España) [Consulta: 1 enero 2019]. Disponible en: http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/interpretaciones/quimicas/Cloruro_calcico_quesos.pdf.

Nutrition Center For Food Safety - Applied. Consumers - *Los peligros de la leche cruda: La Leche sin Pasteurizar Puede Representar un Riesgo Grave para la Salud.* [en línea], United States of América: 2015, [Consulta: 31 julio 2018]. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/resourcesforyou/consumers/ucm210577.htm>.

Olaizola, A. *La sal marina como fuente de hongos.* [en línea]. 2017. [Consulta: 6 enero 2019]. Disponible en: <https://gastronomiaycia.republica.com/2017/10/04/la-sal-marina-puede-ser-fuente-de-hongos-y-estropear-los-alimentos/>.

Oleas, R. *Conductividad eléctrica.* [en línea], España: Oleas R, 2015. pp. 2. [Consulta: 4 enero 2019]. Disponible en: http://ftp.murciaeduca.es/programas_educativos/Nuevo1/LIBROETSIA/21_analisis_de_aguas_conductividad_elctrica.html.

Organisation for Economic Co-Operation and Development, *Global Trends in the Dairy Industry* [en línea]. United States of América: 2002. [Consulta: 1 enero 2019]. ISBN 92-64-19766-4. Disponible en: www.SourceOECD.org.

Organización de las Naciones Unidas Para la Alimentación y Agricultura (FAO), *Milk Facts.* [en línea]. Canadá: 2015 [Consulta: 21 diciembre 2018]. Disponible en: <http://www.fao.org/resources/infographics/infographics-details/es/c/273893/>.

Organización Mundial de la Salud. *Guidelines on Hand Hygiene in Health Care First Global*

Patient Safety Challenge Clean Care is Safer Care [en línea]. Suiza: 2009. [Consulta: 5 enero 2019]. ISBN 9789241597906. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44102/9789241597906_eng.pdf;jsessionid=316C2939A25A8B528698B5487C5D83F5?sequence=1.

Organización Mundial de la Salud. *Informe de la OMS sobre enfermedades de transmisión alimentaria.* [en línea]. Suiza: 2015. [Consulta: 21 diciembre 2018]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/detail/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths>.

Parmer, C. Filtración de Flujo Tangencial. [en línea]. España: Parmer C, 2009. [Consulta: 2 enero 2019]. Disponible en: <https://www.coleparmer.com/tech-article/tangential-flow-filtration?tlg=es-ES>.

Pasquarella, C., Pitzurra, O. y Savino, A. “The index of microbial air contamination. *Journal of Hospital Infection*” [en línea], 2000, (Italia) vol. 46, pp. 241-256. [Consulta: 6 enero 2019]. DOI 10.1053/jhin.2000.0820. Disponible en: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.632.858&rep=rep1&type=pdf>.

Pontín, M., Barraza, A. y Bruschi, J. *Estudio de la calidad microbiológica y fisicoquímica de salmueras en una quesería.* [en línea]. Tandil-Argentina: Pontín M, 2017.: [Consulta: 21 diciembre 2018]. Disponible en: <http://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/1472/PONTIN%2C%20MAXIMILIANO%20MATIAS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Pontín, M., Barraza, A. y Julieta, B. Estudio de la calidad microbiológica y fisicoquímica de las condiciones de la leche en una quesería. 2da Edición. Argentina: Gustavo Gili, 2017, pp. 3-4

Programa Cooperativo de Desarrollo Rural para América Latina y el Caribe. *Procesados de lácteos.* [en línea]. FAO: 2013. [Consulta: 1 enero 2019]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-au170s.pdf>.

Puerta-García, A. y Rodríguez-Mateos, F. “Enterobacterias”. *Hospitalario Universitario de Albacete* [en línea]. 2010, (España) vol.10, no.51, pp.1-6 [Consulta: 2 enero 2019]. Disponible en: <http://www.elsevierinsituaciones.com>.

Ramírez-Navas, J.S., Aguirre-Londoño, J., Aristizabal-Ferreira, V.A. y Castro-Narváez, S.

La sal en el queso: diversas interacciones. España: Agronomía Mesoamericana, vol. 28, no. 1, pp. 303. ISSN 2215-3608. DOI 10.15517/am.v28i1.21909.

Ramírez, C. y Vélez-Ruiz, J. *Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad*. [en línea], México: Ramírez, Carolina, 2012. pp. 19. [Consulta: 1 enero 2019]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/303959697_Quesos_frescos_propiedades_metodos_de_determinacion_y_factores_que_afectan_su_calidad.

Ramírez, C. y Vélez, J. Quesos frescos: qué conocer de ellos. 2014. Ingeniería De Alimentos, 4ta ed. vol. 2, pp. 129-148.

Reinheimer, J. y Salazar, C. Avances en Microbiología, Bioquímica y Tecnología de quesos [en línea]. Argentina: Ivana Tosti, 2006. [Consulta: 2 enero 2019]. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=G_EOqK0qBq8C&pg=PA11&lpg=PA11&dq=microbiologia+salmuera&source=bl&ots=cba9XRHtia&sig=TRKp_ZYhbSa-9GUFyFDIOpAc5rI&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwjYu97dp8_fAhUv01kKHVa-CpUQ6AEwD3oECAMQAQ#v=onepage&q=microbiologia+salmuera&f.

REVISTA LÍDERES. *Las ventas de los lácteos mejoraron*. [en línea]. Ecuador: Ramírez, Sofía, 2015. [Consulta: 21 diciembre 2018]. Disponible en: <https://www.revistalideres.ec/lideres/ventas-lacteos-mejoraron-produccion-industria.html>.

Rossetti, D. y O'kane, H. *Sistemas alternativos de filtración* [en línea]. España, Rossetti D, 2001. Elston Press. [Consulta: 2 enero 2019]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2674619>.

Scheitler, *Salinómetro pesa sal*. [en línea]. Argentina: 2010. [Consulta: 3 enero 2019]. Disponible en: <http://www.scheitler.com.ar/Productos/densímetros-salinómetros/03-008.aspx>.

Seija, V., *Etiopatogenia microbiológica: Staphylococcus aureus*. [en línea]. Uruguay: Temas de bacteriología y virología médica, 2003. [Consulta: 5 enero 2019]. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Staphylococcus.pdf>.

Sémper, F. *Salmonelosis: Qué es, Síntomas, Tratamientos e Información*. [en línea]. España: 2008. [Consulta: 6 enero 2019]. Disponible en: <https://cuidateplus.marca.com/enfermedades/infeccionesas/salmonelosis.html>.

Sin-Bin, C. y Newman, M. Microbiological Guidelines for Food [en línea]. Hong Kong: Centre for Food Safety, 2014. [Consulta: 4 enero 2019]. Disponible en: https://www.cfs.gov.hk/english/food_leg/files/food_leg_Microbiological_Guidelines_for_Food_e.pdf.

Sygula, J., Tomasz, L., Szostak, J., Blykal, B. y Sawoszczuk. “ATP bioluminescence method in surface hygiene monitoring”. *Krakow* [en línea], 2014, (Polonia) vol. 2, no. 1, pp. 12. [Consulta: 9 enero 2019]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/270283798_ATP_BIOLUMINESCENCE_METHOD_IN_SURFACE_HYGIENE_MONITORING.

Tell, L. “Cross Contamination. Outgamie” [en línea], 2011.vol. 1, no. 2, pp. 3. [Consulta: 6 enero 2019]. Disponible en: <http://www.outagamie.org/Home/ShowDocument?id=6647>.

Universidad Autónoma de México. *Quesos* [en línea]. México: 2007 [Consulta: 1 enero 2019]. Disponible en: http://www.inaes.gob.mx/doctos/pdf/guia_empresarial/quesos.pdf.

Universidad de Almería. *Recopilación de norma general del codex para el queso*. 2013. 2da Ed. Almería-España: pp. 1-5.

Universidad de Salamanca. *Recuento de hongos filamentosos y levaduras*. [en línea]. España: 2012. [Consulta: 3 enero 2019]. Disponible en: http://coli.usal.es/web/demo_alteracion/RtoHongosLev/RtoHongosLev.html.

Universidad de Zulia. *Fundamentos para la elaboración de quesos*. [en línea]. Venezuela: 2003 [Consulta: 1 enero 2019]. Disponible en: <http://www.fcv.luz.edu.ve/images/stories/catedras/leche/quesos.pdf>.

Universidad de Zulia. *Introducción al control de calidad de la leche cruda*. [en línea]. 2003b. [Consulta: 2 agosto 2018]. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/materialdeapoyoparapruebasdeplataforma_1693.pdf.

Valenzuela, C. *Proceso de Manufactura del Queso*. Colombia: Universidad Nacional Abierta y a Distancia, 2011 [Consulta: 9 enero 2019]. Disponible en: https://repository.unad.edu.co/bitstream/10596/4998/1/332571_Modulo2011.pdf.

Vang, Ó.K. ATP measurements for monitoring microbial drinking water quality [en línea]. (tesis). (PhD) Technical University of Denmark, Dinamarca. 2013 [Consulta: 9 enero 2019]. Disponible en: https://aquatex.dk/wp-content/files/informationer/Luva_Karin_Vang_PhD_Thesis_for_ORBIT.pdf.

Velez, R.A. *Consumo de queso en Ecuador*. [en línea]. Ecuador: Velez R, 2016. [Consulta: 21 diciembre 2018]. Disponible en: <http://elproductor.com/noticias/el-consumo-de-quesos-superara-los-25-mns-de-toneladas-en-2020/>.

Ventosa, A., Nieto, J. y Oren, A. “Biology of Moderately Halophilic Aerobic Bacteria”. *Microbiology and molecular biology reviews* [en línea]. 1998, (España) vol.62, no.2, [Consulta: 6 enero 2019]. Disponible en: https://www.um.es/biomybiotec/web/Seminarios/2008/papers/A_Ventosa_Biology_moderately_halophilic.pdf.

Widdel, F. “Theory and Measurement of Bacterial Growth A”. *Basic and practical aspects*. [en línea], 2007, Alemania, pp. 11. [Consulta: 4 enero 2019]. Disponible en: <https://www.mpi-bremen.de/Binaries/Binary307/Wachstumsversuch.pdf>.

Yugcha, S. Determinación de la presencia de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes y multiresistentes aislados en quesos frescos artesanales elaborados en zonas rurales de Riobamba (Tesis), Escuela Superior Politécnica De Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2016. pp. 41-45.

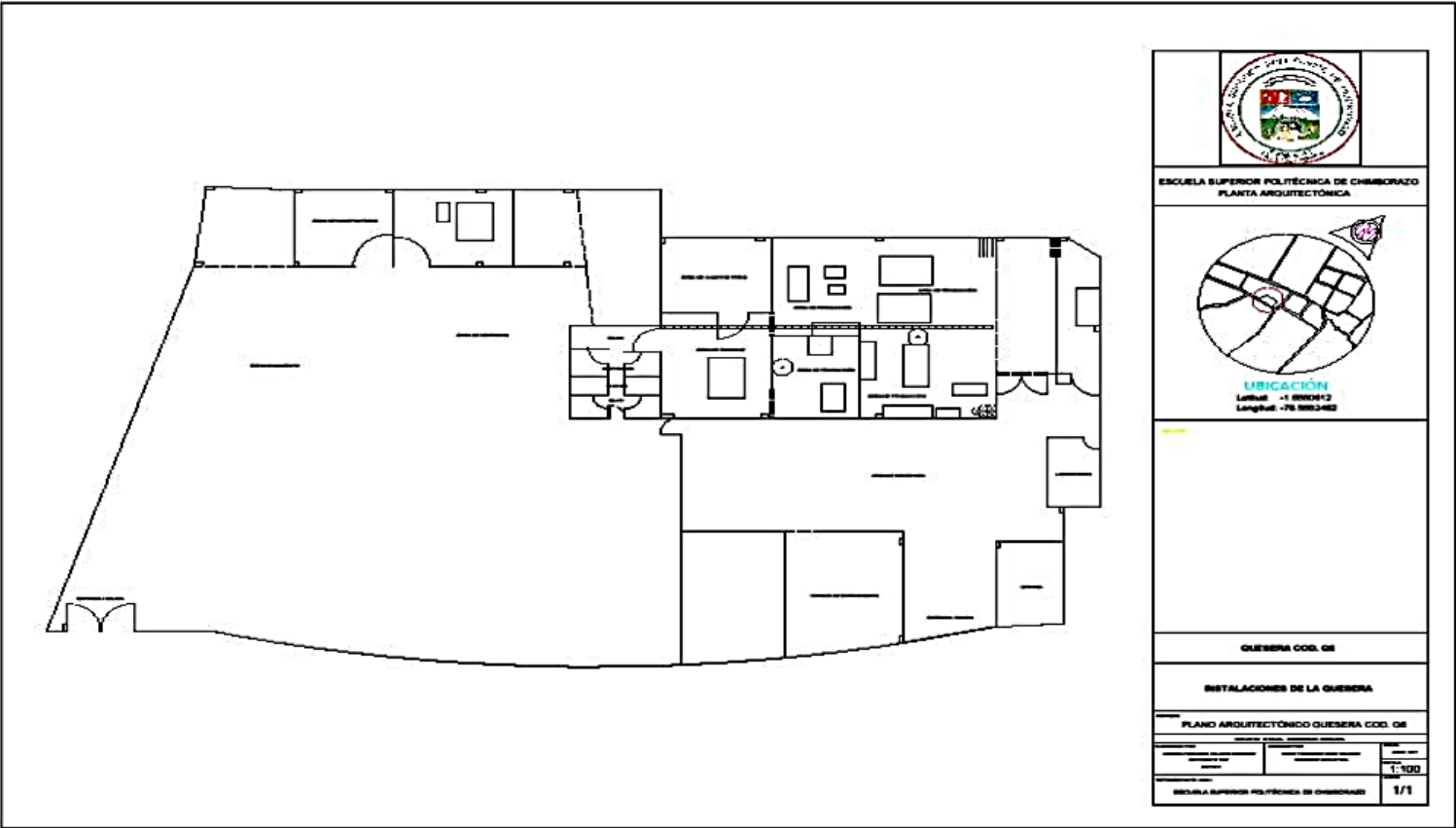
Zamorán, D. *Manual de procesamiento lácteo* [en línea]. Nicaragua: Oviedo Diana, 2012. [Consulta: 1 enero 2019]. Disponible en: https://www.jica.go.jp/nicaragua/espanol/office/others/c8h0vm000001q4bc-att/14_agriculture01.pdf.

Zamorano, V. Análisis de mesofilos aerobios, mohos y levaduras, coliformes totales y *Salmonella spp.* En cuatro ingredientes utilizados en la planta de lácteos de Zamorano, Honduras. [en línea]. Honduras: Zamorano, 2002. [Consulta: 2 enero 2019]. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1553/1/AGI-2002-T036.pdf>.

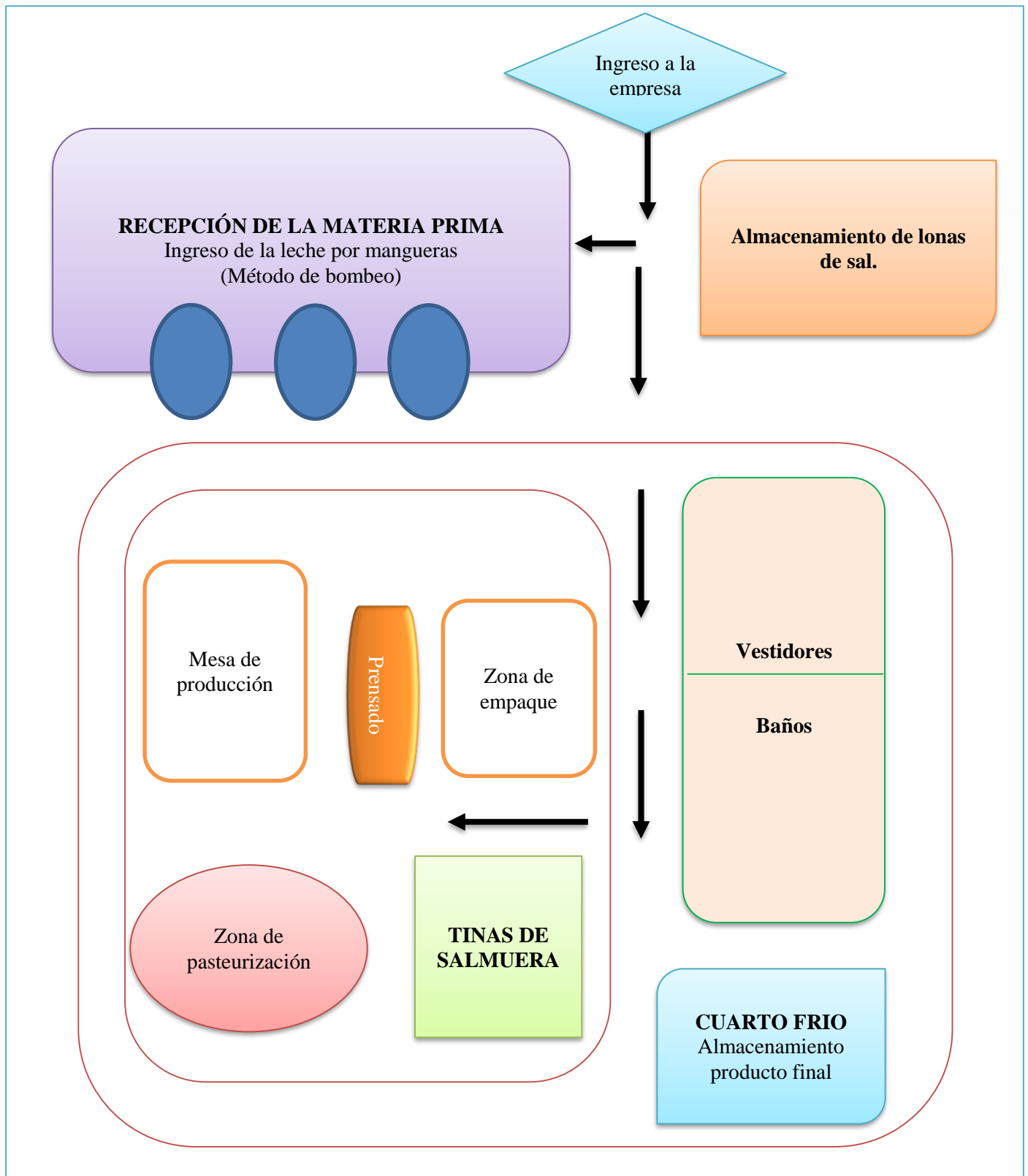
Zendejas, G., Avalos, H. y Soto, M. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Revista Biomed* [en línea], 2014, (México) vol.25, no.1, pp. 129-143. [Consulta: 5 enero 2019]. Disponible en: <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb142534.pdf>.

ANEXOS

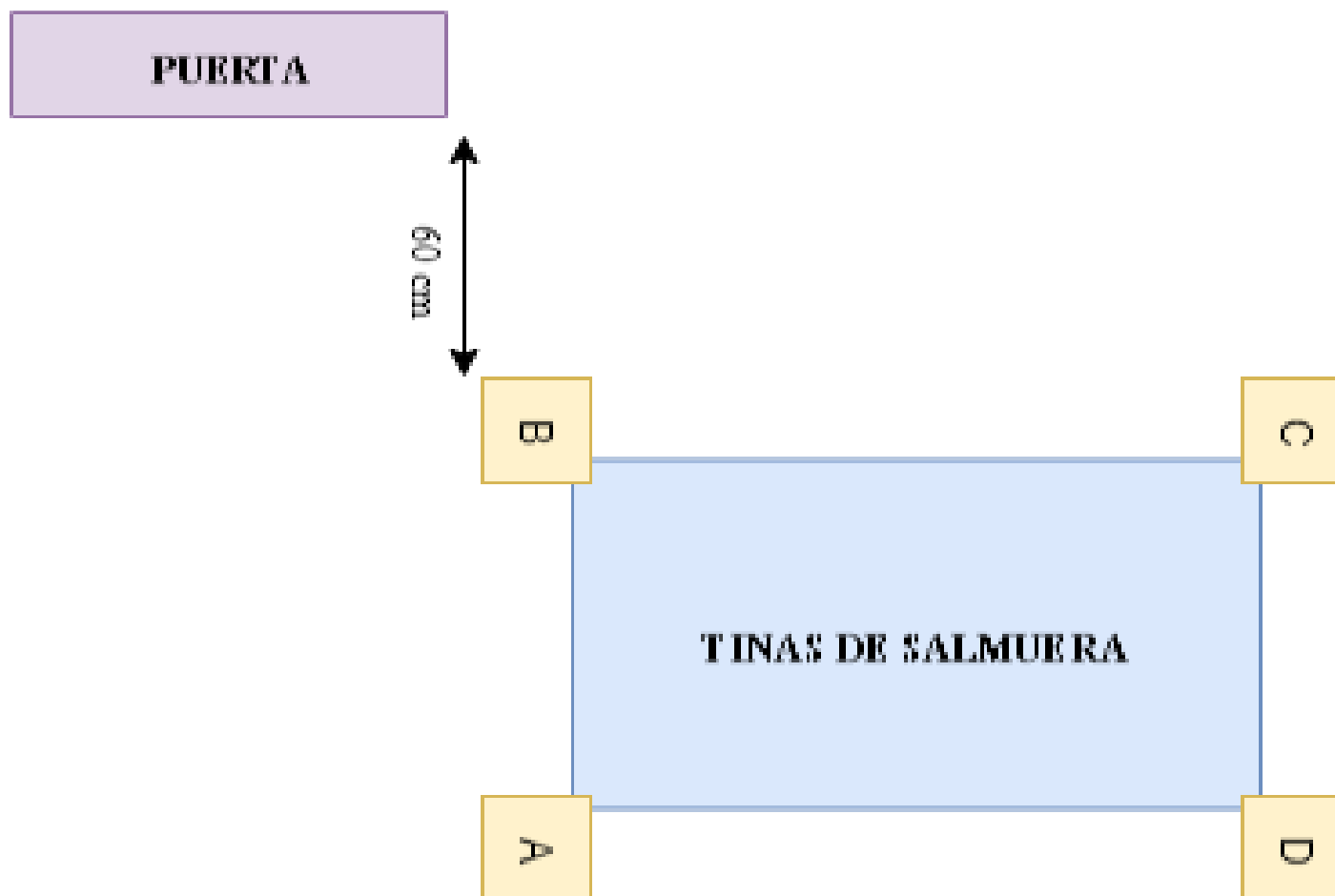
ANEXO A: Plano Arquitectónico de la Quesera Artesanal de la Parroquia Quimiag.



ANEXO B: Mapa de distribución de la quesera artesanal.

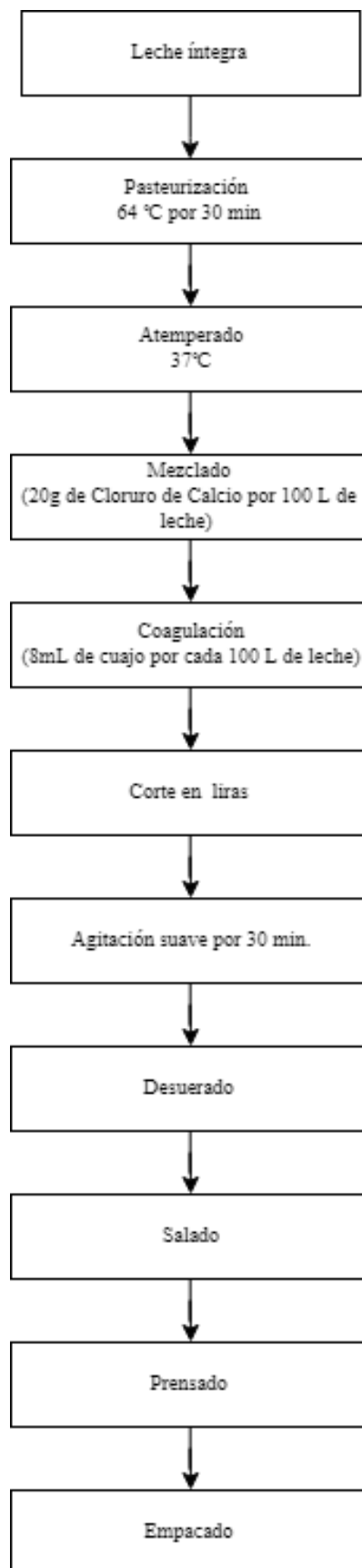


ANEXO C: Disposición de tinas de salmuera.



Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018

ANEXO D: Proceso de elaboración de quesos.



Elaborado por: Kimberly León, 2018.

ANEXO E: Evidencias fotográficas.

MEDICIÓN DE ATP



Imagen 1: Hisopos Ultra Snap para el muestreo de superficies inertes y vivas.



Imagen 2: Luminómetro Hygiene EnSURE™ Monitoring System



Imagen 3: Delimitación de área para muestreo de superficies inertes.



Imagen 4: Superficies vivas (manos de los manipuladores).

CONDICIONES DE LAS TINAS DE SALMUERA A TRAVÉS DEL TIEMPO



| | |
|---|--|
| <p>Imagen 5: Tinas de salmuera limpias.</p> | <p>Imagen 6: Bidones limpios.</p> |
|  |  |
| <p>Imagen 7: Visión general de las tinas de salmuera.</p> | <p>Imagen 8: Tacho con desechos, al lado de la tina de salmuera.</p> |
|  |  |
| <p>Imagen 9: Llenado de tina de salmuera con agua de la manguera.</p> | <p>Imagen 10: Granos de sal en la tina e salmuera.</p> |
|  |  |
| <p>Imagen 11: Estado de la salmuera en el día 3.</p> | <p>Imagen 14: Mesa de quesos.</p> |



Imagen 15: Caja petri con crecimiento microbiano en agar Saboraud.



Imagen 16: Procesamiento de las muestras en la cámara de flujo laminar.

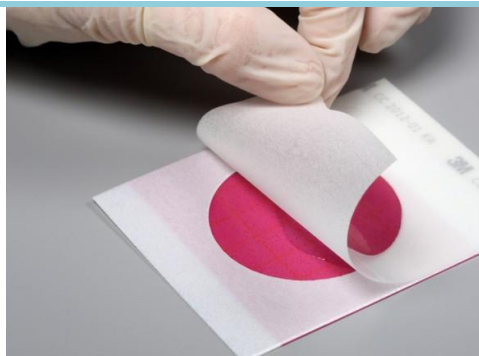


Imagen 17: Placa Petrilm antes del inóculo.

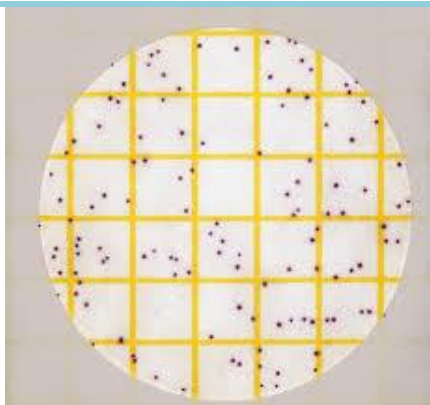


Imagen 18: Aspecto general del crecimiento de microorganismos en Placa Petrifilm.

PROCESO DE ELABORACIÓN DE SALMUERA



Imagen 1: Eliminación de



Imagen 2: Lavado y



Imagen 3: Introducción de

la salmuera utilizada.



Imagen 4: Expansión de la sal a lo largo del recipiente.

enjuague de las tinas de salmuera.



Imagen 5: Llenado con agua en las tinas con sal.

los quintales de sal en las diferentes tinas.



Imagen 6: Llenado con agua en las tinas con sal.



Imagen 7: Lavado de la sal utilizada sobrante.



Imagen 8: Reutilización de la sal.



Imagen 9: Introducción del producto en la salmuera.

Elaborado por: Andrea Aguilera, 2018